



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

Evaluación del arsénico en aguas subterráneas utilizadas en áreas rurales de Uruguay y su posible impacto en la salud

BC Paulina Pizzorno Arbio

Tesis de Doctorado

Presentada como uno de los requisitos para el título de

Doctora en Química

Programa de Posgrado en Química de la Facultad de
Química Universidad de la República
Programa de Desarrollo de Ciencias Básicas

Diciembre 2024

Montevideo – Uruguay



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

Evaluación del arsénico en aguas subterráneas utilizadas en áreas rurales de Uruguay y su posible impacto en la salud

Tribunal:

Dra. Susana García

Dra. Florencia Tissot

Dra. Cecilia Maldonado

Directoras de Tesis:

Prof. Titular Dra. Nelly Mañay

Prof. Agregado Dra. Valery Bühl

Montevideo – Uruguay

**Evaluación del arsénico en aguas subterráneas utilizadas en áreas rurales
de Uruguay y su posible impacto en la salud**

Paulina Pizzorno Arbio,

Doctora

Programa de Posgrado en Química de la Facultad de
Química, Universidad de la República

Año 2024

DIRECTORAS:

Dra. Nelly Mañay. Área de Toxicología, Facultad de Química, Universidad de la
República

Dra. Valery Bühl. Área de Química Analítica, Facultad de
Química, Universidad de la República

Resumen

El arsénico es un elemento natural ampliamente distribuido en la corteza terrestre. Es una de las diez sustancias que la Organización Mundial de la Salud (OMS) considera más preocupantes para la salud pública, y la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC) lo ha clasificado como un carcinógeno humano probado (Grupo 1) debido a la alta toxicidad de sus especies inorgánicas. Las especies solubles de arsénico inorgánico presentan los estados de oxidación +III y +V, siendo que la especie +III es más tóxica que la +V. El principal riesgo de exposición ambiental al arsénico a nivel global proviene del consumo de agua subterránea con niveles elevados de este elemento, ya sea de origen geogénico o natural, lo cual ha sido ampliamente estudiado a nivel internacional dentro del marco multidisciplinario de la Geología Médica.

En Uruguay, la investigación oficial y las preocupaciones sobre los niveles de arsénico en el agua subterránea destinada al consumo humano son relativamente recientes, surgieron cuando los valores límite para el agua potable fueron ajustados por normativas nacionales en 2010 a $20 \mu\text{g L}^{-1}$ y se intentó alinearlos con la recomendación de la OMS de menos de $10 \mu\text{g L}^{-1}$. Sin embargo, en las zonas rurales donde la red oficial de suministro de agua no llega, su consumo ocurre a través de pozos privados que carecen de control de potabilidad.

Esta tesis se estructura de la siguiente manera: desarrollo de métodos analíticos, monitoreo ambiental, evaluación de riesgos y estudios poblacionales.

Desarrollo de Métodos Analíticos: Se exploró el desarrollo y la validación de metodologías analíticas para la determinación de arsénico en agua y su aplicación a muestras de pozos de diversos orígenes utilizadas para el suministro humano. También se desarrollaron metodologías para la separación y determinación de especies de arsénico inorgánico en esta matriz, lo que permitió caracterizar las especies predominantes en el agua subterránea y proporcionar información sobre su potencial toxicidad. Además, se desarrollaron y validaron métodos para la determinación de especies toxicológicamente relevantes en orina para identificar el mejor biomarcador de exposición al arsénico inorgánico en poblaciones presuntamente expuestas.

Monitoreo Ambiental: Estas nuevas metodologías analíticas permitieron el monitoreo de agua subterránea en diversas regiones rurales del país que no están cubiertas por los controles oficiales de agua potable. Se estudiaron, entre otras, las regiones de San Pedro (Colonia) y San Antonio (Canelones).

Los resultados del monitoreo ambiental indicaron que, en San Antonio, Canelones, más del 60% de las muestras superaron el nivel de arsénico de $20 \mu\text{g L}^{-1}$ establecido por la normativa nacional, mientras que, en San Pedro, Colonia, más del 65% de las muestras superaron los niveles recomendados por la OMS.

Evaluación de Riesgos: Junto con los datos obtenidos del monitoreo ambiental, se evaluó la magnitud potencial de los riesgos para la salud relacionados con la exposición al arsénico a través del agua en las muestras estudiadas, utilizando herramientas estándar recomendadas por la OMS y la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA). La evaluación de riesgos indicó que los niveles de arsénico en la mayoría de las muestras estudiadas no eran seguros para las personas que consumen el agua durante toda su vida.

Estudios Poblacionales: Se seleccionó el área rural de San Antonio, Canelones, Uruguay, para realizar una encuesta de consumo, monitoreo del agua consumida y evaluación de la exposición a través del biomonitoreo utilizando su biomarcador específico para arsénico inorgánico (especies toxicológicamente relevantes en orina).

La evaluación de la exposición en la población seleccionada de San Antonio reveló que el 95% consume agua de sus pozos y muestra niveles cuantificables del biomarcador específico para arsénico inorgánico, lo que indica una clara exposición de la comunidad a este elemento tóxico. Este trabajo dió inicio a un estudio más profundo en la región, junto con profesionales médicos locales y asociaciones civiles, con el objetivo de promover la comunicación de riesgos y el empoderamiento comunitario en la búsqueda de soluciones.

Los resultados globales de esta investigación subrayan la importancia de establecer sistemas de vigilancia y control para las poblaciones expuestas a niveles de arsénico a través del agua subterránea, con el fin de comprender, evaluar y sensibilizar sobre este problema, asegurando que sea reconocido por las autoridades sanitarias y ambientales.

En resumen, nuestras evaluaciones son inéditas en Uruguay, y este estudio establece las bases para evaluar más a fondo los riesgos de exposición al arsénico en las poblaciones que consumen agua subterránea de sus propios pozos, tomando las precauciones necesarias para prevenir los riesgos para la salud asociados con éste.

Palabras claves: arsénico, agua subterránea, evaluación de riesgo, población rural

**Assessment of Arsenic in Groundwater Used in Rural Areas of Uruguay
and Its Potential Health Impact**

Dra. Paulina Pizzorno.

Graduate Program in Chemistry, Facultad
de Química, Universidad de la República

Año 2024

DIRECTORS:

Dra. Nelly Mañay. Área de Toxicología, Facultad de Química, Universidad de la
República

Dra. Valery Bühl. Área de Química Analítica, Facultad de
Química, Universidad de la República

Abstract

Arsenic is a naturally occurring element widely distributed in the Earth's crust. It is one of the ten substances considered most concerned for public health by the World Health Organization (WHO), and the International Agency for Research on Cancer (IARC) has classified it as a proven human carcinogen (Group 1) due to the high toxicity of its inorganic species. Soluble inorganic arsenic species exhibit oxidation states of +III and +V, with the +III species being several times more toxic than the +V species. The primary risk of environmental exposure to arsenic globally arises from the consumption of groundwater with elevated levels of this element, whether of geogenic or natural origin, which has been extensively studied internationally within the multidisciplinary framework of Medical Geology.

In Uruguay, official research and concerns regarding arsenic levels in groundwater intended for human consumption are relatively recent, arising when the drinking water limit values were adjusted in 2010 to $20 \mu\text{g L}^{-1}$ and aimed to align with the WHO recommendation of less than $10 \mu\text{g L}^{-1}$. However, in rural areas where the official water supply network does not reach, its consumption occurs through private wells that lack potability control.

This thesis is structured as follows: development of analytical methods, environmental monitoring, risk assessment, and population studies.

Development of Analytical Methods: We explored the development and validation of analytical methodologies for arsenic determination in water and their application to well samples of various origins used for human supply. Methodologies for the separation and determination of inorganic arsenic species in this matrix were also developed, allowing for the characterization of predominant species in groundwater and providing information on their potential toxicity. Additionally, methods were developed and validated for determining toxicologically relevant species in urine to identify the best biomarker for exposure to inorganic arsenic in allegedly exposed populations.

Environmental Monitoring: These new analytical methodologies enabled groundwater monitoring in different rural regions of the country not covered by official drinking water controls. Notably, the regions of San Pedro (Colonia) and San Antonio (Canelones) were studied among others.

Environmental monitoring results indicated that in San Antonio, Canelones, over 60% of samples exceeded the arsenic level of $20 \mu\text{g L}^{-1}$ established by national regulations, while in San Pedro, Colonia, over 65% of samples exceeded levels recommended by WHO.

Risk Assessment: Alongside data collected from environmental monitoring, the potential magnitude of health risks related to arsenic exposure through water in the studied samples was evaluated using standard tools recommended by WHO and the United States Environmental Protection Agency (USEPA). The risk assessment indicated that the arsenic levels in most of the samples studied were unsafe for individuals consuming the water throughout their lives.

Population Studies: The rural area of San Antonio, Canelones, Uruguay, was selected for a consumption survey, monitoring of consumed water, and exposure assessment through biomonitoring using its specific biomarker for inorganic arsenic (toxicologically relevant species in urine).

The exposure assessment in the selected population of San Antonio revealed that 95% consume water from their wells and show quantifiable levels of the specific biomarker for inorganic As, indicating clear exposure of the community to this toxic element. This work initiated a deeper study in the region, alongside local medical professionals and civil associations, aimed at promoting risk communication and community empowerment in seeking solutions.

The overall results of this research underscore the importance of establishing surveillance and control systems for populations exposed to arsenic levels through groundwater to understand, evaluate, and raise awareness about this issue, ensuring it is recognized by health and environmental authorities.

In summary, our described evaluations in Uruguay are unprecedented, and this study sets the baselines for further assessing exposure risks to arsenic in populations consuming groundwater from their own wells while taking necessary precautions to prevent health risks associated with it.

Key words: Arsenic, groundwater, health risk, rural population.

CARRERA DE POSGRADO	Doctorado en Química		
ESTUDIANTE	NOMBRE: Paulina Pizzorno Arbio	C.I 4433756-0	
DEFENSA	LUGAR: Facultad de Química	FECHA 12/12/224	HORA 10:00
TÍTULO DE TESIS	Evaluación del arsénico en aguas subterráneas utilizadas en áreas rurales de Uruguay y su posible impacto en la salud		
DICTAMEN ¹	CALIFICACIÓN Excelente	NOTA 12	

JUSTIFICACIÓN

El Tribunal habiendo analizado la tesis en profundidad considera:

En esta tesis se destaca la realización de un trabajo interdisciplinario en una temática de gran interés para la salud pública. Además de la investigación realizada, es importante mencionar el trabajo de extensión llevado a cabo por la tesista.

El discurso académico se redacta con precisión, claridad, brevedad, capacidad argumentativa y de síntesis.

El índice evidencia una secuencia lógica de títulos entre la introducción y las conclusiones. Se integran las teorías y conceptos del marco teórico al dispositivo expositivo. En las conclusiones, se evalúa el cumplimiento de los objetivos, a partir de una síntesis de resultados, las fortalezas y debilidades del estudio y las perspectivas a futuro.

Los objetivos de la investigación están claros y bien definidos para abordar la temática de estudio. Se destaca la inclusión en los objetivos de la evaluación de riesgo para la salud de las personas debido al consumo de agua contaminada.

Desde el punto de vista analítico presenta el desarrollo y validación de nuevas metodologías de análisis de especiación de arsénico, tanto en agua como en orina.

También es de gran valor la realización del biomonitoreo de arsénico por primera vez en la comunidad rural uruguaya, sentado las bases para futuros estudios y para el desarrollo de la toxicología regulatoria en la temática mediante establecimiento de valores de referencia basados en riesgo y la adecuación de tecnologías de abatimiento para lograr el cumplimiento de los mismos.

Los resultados obtenidos son originales, destacándose su publicación en revistas internacionales de impacto en el área de estudio, así como también numerosas presentaciones en eventos científicos nacionales e internacionales y los premios obtenidos. Asimismo, la bibliografía referida es acorde y actualizada.

La presentación fue realizada utilizando medios audiovisuales adecuados y de manera clara y concisa. Posteriormente respondió con solidez las preguntas del Tribunal lo que indica la excelente formación alcanzada.

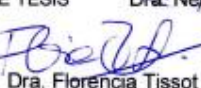
Por lo anterior, el tribunal le otorga la calificación de excelente.

DIRECTORAS DE TESIS

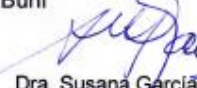

Dra. Nelly Marfay


Dra. Valery Bühl

TRIBUNAL


Dra. Florencia Tissot


Dra. Cecilia Maldonado


Dra. Susana García

La Tesis podrá resultar:

a) Aprobada con las siguientes calificaciones (notas): Excelente (10, 11 ó 12); Muy Bueno (8 ó 9); Bueno (5, 6 ó 7); Aceptable (3 ó 4).

b) Reprobada con las siguientes calificaciones: Insuficiente (1 ó 2); Muy Insuficiente (0).



PROGRAMA DE DESARROLLO DE LAS CIENCIAS BÁSICAS
Ministerio de Educación y Cultura - Universidad de la República

Área Química

ACTA. En Montevideo, a los doce días del mes de diciembre de 2024, se reúne en Facultad de Química el Tribunal que entendió en la defensa de la tesis de Doctorado en Química que postula la BC Paulina Pizzorno Arbio, cuyo título es "Evaluación del arsénico en aguas subterráneas utilizadas en áreas rurales de Uruguay y su posible impacto en la salud".

Asisten todos sus integrantes: Dras. Florencia Tissot, Cecilia Maldonado y Susana García (Facultad de Medicina - Universidad de Buenos Aires, Argentina), y las directoras de Tesis Dras. Nelly Mañay y Valery Bühl.

El Tribunal habiendo analizado la tesis en profundidad considera:

En esta tesis se destaca la realización de un trabajo interdisciplinario en una temática de gran interés para la salud pública. Además de la investigación realizada, es importante mencionar el trabajo de extensión llevado a cabo por la tesista.

El discurso académico se redacta con precisión, claridad, brevedad, capacidad argumentativa y de síntesis. El índice evidencia una secuencia lógica de títulos entre la introducción y las conclusiones. Se integran las teorías y conceptos del marco teórico al dispositivo expositivo. En las conclusiones, se evalúa el cumplimiento de los objetivos, a partir de una síntesis de resultados, las fortalezas y debilidades del estudio y las perspectivas a futuro.

Los objetivos de la investigación están claros y bien definidos para abordar la temática de estudio. Se destaca la inclusión en los objetivos de la evaluación de riesgo para la salud de las personas debido al consumo de agua contaminada.

Desde el punto de vista analítico presenta el desarrollo y validación de nuevas metodologías de análisis de especiación de arsénico, tanto en agua como en orina.

También es de gran valor la realización del biomonitorio de arsénico por primera vez en la comunidad rural uruguaya, sentado las bases para futuros estudios y para el desarrollo de la toxicología regulatoria en la temática mediante establecimiento de valores de referencia basados en riesgo y la adecuación de tecnologías de abatimiento para lograr el cumplimiento de los mismos.

Los resultados obtenidos son originales, destacándose su publicación en revistas internacionales de impacto en el área de estudio, así como también numerosas presentaciones en eventos científicos nacionales e internacionales y los premios obtenidos. Asimismo, la bibliografía referida es acorde y actualizada.

La presentación fue realizada utilizando medios audiovisuales adecuados y de manera clara y concisa. Posteriormente respondió con solidez las preguntas del Tribunal lo que indica la excelente formación alcanzada.

ÁREA QUÍMICA

Facultad de Química, Av. General Flores 2124, Montevideo 11800, URUGUAY

Teléfonos: (+598) 29242338. Fax: (+598) 29241906.

Página web: www.pedeciba.edu.uy/quimica

Correo electrónico: presupuestoquimica@pedeciba.edu.uy – gabig@fq.edu.uy

Por lo anterior, el tribunal le otorga la calificación de excelente.



Dra. Florencia Tissot



Dra. Cecilia Maldonado



Dra. Susana Garcia



Dra. Valery Bühl



Dra. Nelly Manay

ÁREA QUÍMICA

Facultad de Química, Av. General Flores 2124, Montevideo 11800, URUGUAY

Teléfonos: (+598) 29242338. Fax: (+598) 29241906.

Página web: www.pedeciba.edu.uy/quimica

Correo electrónico: presupuestoquimica@pedeciba.edu.uy – gabig@fq.edu.uy

Para Juli, Mati e Inés

Agradecimientos

En primer lugar, quiero agradecer a mis tutoras, quienes me impulsaron y acompañaron en este largo camino. A Nella, por confiar en mí incluso más de lo que yo misma lo hacía, por motivarme a realizar mis estudios de posgrado. A Valery, por estar presente en el día a día, formando un gran equipo de trabajo y de confidentes. Gracias a ambas por sus conocimientos, confianza, cariño y por sus palabras de aliento constantes.

Al tribunal, por aceptar con entusiasmo la evaluación de mi Tesis y por sus valiosos aportes, que enriquecieron mis conocimientos y ayudaron a mejorar el trabajo.

A mis compañeras de Toxi, por el aguante a lo largo de todos estos años. En especial a Cris, por cubrirme cuando lo necesité, tanto en las clases como en el laboratorio. Por vivir conmigo la última semana con tanta intensidad y por estar ahí para que la defensa saliera de la mejor manera posible y último, pero no menos importante por la corrección de estilo de la Tesis.

A Mariela P. y a Lu, por los inicios en el proyecto CSIC INI; aprendí mucho de ustedes y trabajar en equipo fue una experiencia muy gratificante.

A los colegas de Química Analítica, por permitirme entrar en su laboratorio y trabajar como una compañera más. En especial, a Fio, Lu y Jess, por las largas charlas de trabajo y por la amistad que cosechamos.

A Paula Collazo, Virginia Strambini y Pedro Schorguet, por dejarme ser parte del trabajo en San Pedro. Con ustedes aprendí mucho sobre las salidas de campo.

A Mariela Garau y Germán Botto, por su apoyo en la planificación del muestreo, asegurándose de que fuera el más adecuado para la población en estudio.

A Mariano Cáceres, por su incondicionalidad, por su "sí" a todo, por su paciencia en las salidas de campo y cuando estaba del otro lado del escritorio.

A mi tía Inés, por hacer que el trabajo en San Antonio fuera más fácil por su vínculo con los vecinos y, su disponibilidad, por los almuerzos en mitad de las jornadas de muestreo.

A Carolina Arbelo, por abrirme las puertas de la Policlínica de San Antonio y por presentarme a Gastón, Josefita y Lucía, quienes, con grandes charlas al sol, se entusiasmaron con la temática y me ayudaron a encontrar el mejor camino para acercarme a la comunidad.

A la comunidad de San Pedro, que siempre nos recibe con entusiasmo, y a la comunidad de San Antonio, por abrirme las puertas de sus hogares.

A mis compañeras del Laboratorio del Hospital Maciel y del Laboratorio de Bacteriología del Hospital Canzani, por su apoyo en la reorganización de las guardias, permitiéndome estar presente en las actividades académicas requeridas.

A mi familia, por ser un apoyo constante.

A Mati, por acompañarme en cada decisión que tomé, sabiendo que esto es lo que me apasiona. A Juli, por su paciencia, incondicionalidad y por esa energía que me impulsa a hacer las cosas de la mejor manera posible.

A mis padres, por enseñarme que con esfuerzo se logran grandes cosas y por estar siempre que los necesito. Gracias, mamá, por cada almuerzo, merienda y cena preparados para nuestra familia.

A mis tíos, mi suegra y mis padres, por su ayuda en el cuidado de Julia.

A mis amigos, por alegrarse de mis logros, por estar ahí para desahogarme y para compartir momentos de diversión.

A las agencias financiadoras, por su apoyo económico en todas las actividades realizadas: a CSIC, por la aprobación del proyecto INI; a ANII, por la beca de maestría; a PEDECIBA, por aceptarme como estudiante; y a CSEAM, por respaldar las actividades con el medio.

Tabla de Contenido

Agradecimientos	xii
Tabla de Contenido	xiv
Lista de Tablas.....	xix
Lista de Figuras.....	xxii
Lista de abreviaturas.	xxviii
Capítulo 1. Introducción	32
1.1.Generalidades.....	32
1.2.Arsénico en el agua subterránea	36
1.2.1. Antecedentes en el mundo	39
1.2.2. Antecedentes en la región	40
1.2.3. Antecedentes en Uruguay	40
1.3.Evaluación de riesgos a la salud por exposición a arsénico a través del consumo de agua.....	42
1.4.Determinaciones analíticas	45
1.4.1. Fase preanalítica.....	45
1.4.2. Fase analítica.....	48
1.4.3. Fase postanalítica	57
Capítulo 2. Justificación y Objetivos.....	58
2.1.Justificación	58
2.2.Objetivos generales.....	59

2.3.Objetivos específicos.....	60
2.4.Estrategias.....	61
Capítulo 3. Metodologías analíticas	63
3.1.Reactivos, materiales y equipos	63
3.1.1. Reactivos y materiales	63
3.1.2. Equipos	65
3.2.Metodologías analíticas	69
3.2.1. Metodologías de determinación de arsénico total en agua	71
3.2.2. Metodologías para la determinación de especies de arsénico inorgánico en agua.....	84
3.2.3. Metodología para la determinación de biomarcadores de arsénico en orina	100
3.2.4. Metodologías para determinación de potasio, magnesio, calcio y manganeso en agua mediante MP-AES.....	107
3.3.Conclusiones parciales sobre el desarrollo y la validación de metodologías analíticas	111
Capítulo 4. Análisis de muestras de agua de pozo: determinación de arsénico total y sus especies inorgánicas.....	112
4.1 Treinta y Tres	116
4.1.1 Muestreo	116
4.1.2 Resultados y discusión de las determinaciones analíticas	117
4.2 Canelones	118
4.2.1 Muestreo	118
4.2.2 Resultados y discusión de las determinaciones analíticas	120

4.3 Colonia.....	123
4.3.1 Muestreo.....	124
4.3.2 Resultados y discusión de las determinaciones analíticas.....	126
4.4 Florida, Durazno, Montevideo, San José y Rivera	129
4.4.1 Resultados y discusión de las determinaciones analíticas.....	129
4.5 Conclusiones parciales sobre las determinaciones analíticas de las muestras de agua subterráneas.....	132
Capítulo 5. Evaluación de riesgos a la salud por exposición a arsénico inorgánico a través del consumo de agua subterránea.....	133
5.1. Metodología para la evaluación de riesgos a la salud por exposición a arsénico a través del consumo de agua	134
5.1.1. Identificación del peligro	134
5.1.2. Caracterización de la relación dosis – respuesta	135
5.1.3. Evaluación de la exposición.....	138
5.1.4. Caracterización de riesgos.....	142
5.2. Resultados y discusión de la evaluación de riesgos a la salud por exposición a arsénico a través del consumo de agua	144
5.2.1. Canelones	144
5.2.2. Colonia	148
5.3. Devolución de resultados a la comunidad	151
5.4. Conclusiones parciales de la evaluación de riesgos a la salud.....	153
Capítulo 6. Evaluación de exposición al arsénico a través del consumo de agua de pozos privados. Estudio descriptivo en la zona rural de San Antonio - Canelones	154
6.1. Objetivos asociados	154

6.2. Metodología.....	155
6.2.1. Muestreo	156
6.2.2. Determinaciones analíticas en agua y orina.....	163
6.2.3. Tratamiento de datos.....	164
6.2.4. Evaluación de riesgos a la salud por exposición al arsénico a través del consumo de agua subterránea	165
6.3. Resultados y discusión	165
6.3.1. Muestreo	165
6.3.2. Determinaciones analíticas	168
6.3.3. Encuesta.....	182
6.3.4. Tratamiento de datos.....	185
6.3.5. Evaluación de los riesgos a la salud por exposición al arsénico a través del consumo de agua subterránea	187
6.4. Devolución de resultados a la comunidad	191
6.5. Conclusiones parciales del estudio poblacional	193
Capítulo 7. Conclusiones y perspectivas a futuro	195
7.1. Conclusiones.....	195
7.2. Fortalezas y debilidades	197
7.3. Perspectivas a futuro.....	198
Referencias bibliográficas	200
Apéndices	218
Apéndice 1. Protocolo de toma de muestras de agua subterránea de consumo para análisis de especies de arsénico inorgánico.....	219

Apéndice 2.	Encuesta orientada población proyecto Colonia.....	222
Apéndice 3.	Plan de muestreo para el Proyecto en San Antonio	224
Apéndice 4.	Toma de muestra para la determinación de especies toxicológicamente relevantes en orina	227
Apéndice 5.	Planilla de muestreo para recoger datos Proyecto San Antonio	228
Apéndice 6.	Hoja informativa	230
Apéndice 7.	Consentimiento informado.....	231
Apéndice 8.	Encuesta Orientada estudio poblacional	234
Apéndice 9.	Artículos publicados en revistas referadas.....	239
Apéndice 10.	Presentaciones en Congresos	282
Apéndice 11.	Premios obtenidos.....	289
Anexos		291
Anexo 1.	Aprobación comité de ética para trabajo con la comunidad	292

Lista de Tablas

Tabla 3.1 Condiciones instrumentales del HG-FAAS.....	73
Tabla 3.2 Diseño multivariado de tipo central compuesto de 2 variables a 3 niveles	75
Tabla 3.3 Cifras de mérito para la determinación de arsénico total (HG-FAAS)	77
Tabla 3.4 Cifras de mérito para la determinación de arsénico total (HG-MP-AES).....	80
Tabla 3.5 Resultado del estudio de estabilidad de las muestras de agua para la determinación de arsénico total.	81
Tabla 3.6 Resultados de arsénico total determinados mediante HG-MP-AES	82
Tabla 3.7 Tabla comparativa entre HG-FAAS y HG-MP-AES	83
Tabla 3.8 Condiciones instrumentales del HPLC.....	87
Tabla 3.9. Cifras de mérito de la especiación de arsénico en agua (HPLC-HG-MP-AES)	90
Tabla 3.10 Cifras de mérito de la especiación de arsénico en agua (SPE/ HG-MP-AES)	93
Tabla 3.11 Concentración promedio evaluada para cada analito según valor de pH de la muestra.....	97
Tabla 3.12 Resultados del estudio de la estabilidad de las especies, As(III) y As(V), almacenados durante 15 días sin cámara de aire y en heladera	98
Tabla 3.13 Comparación de metodologías de especiación de arsénico en agua	99
Tabla 3.14 Cifras de mérito para la determinación de arsénico en orina (HG-MP-AES)	103

Tabla 3.15 Resultados de la prueba de aptitud G-EQUAS (control de orina 2A/2B). ...	104
Tabla 3.16 Resultado de las cifras de mérito según Prácticas estándar del Grupo de Trabajo Científico de Toxicología Forense (SWGTOX)	106
Tabla 3.17 Estudio de estabilidad de la muestra	106
Tabla 3.18 Condiciones instrumentales para la medida de K, Mg, Ca y Mn.	108
Tabla 3.19 Longitudes de onda específicas de cada elemento determinado.....	109
Tabla 3.20 Cifras de mérito para la determinación de potasio en agua por MP-AES	110
Tabla 4.1 Datos de obtención y resultados de las muestras estudiadas	114
Tabla 4.2. Concentración promedio de arsénico en aguas superficiales y aguas subterráneas de las diferentes muestras tomadas en Treinta y Tres.....	117
Tabla 4.3 Resultado de la especiación analítica en las muestras de Canelones del 2021	122
Tabla 4.4 Resultado de la especiación analítica en las muestras de Colonia.....	127
Tabla 4.5 Tabla de resultados de especiación analítica en las muestras de Florida, Montevideo y San José.....	131
Tabla 5.1 Evaluación de efectos cáncer y no cáncer.....	137
Tabla 5.2 Aspectos estudiados en la evaluación de la exposición	138
Tabla 5.3 Parámetros utilizados para estimar la ingesta media diaria de arsénico y los riesgos para la salud asociados en poblaciones adultas y pediátricas	141
Tabla 6.1 Resultados de las medidas de especies toxicológicamente relevantes y creatinina en las muestras de orina	169

Tabla 6.2 Resumen de resultados de parámetros medidos en campo y VMP de la Norma UNIT 833.....	180
Tabla 6.3 Medida de parámetros químicos del agua en el laboratorio	181
Tabla 6.4 Medida de parámetros químicos del agua en el laboratorio (continuación)....	181
Tabla 6.5 Datos obtenidos a partir de la encuesta	182
Tabla 6.6 Coeficientes de correlación de Spearman entre As-U $\mu\text{g g crea}^{-1}$ y algunas de las variables estudiadas	185

Lista de Figuras

Figura 1.1. Orden de toxicidad de las diferentes especies de arsénico.....	34
Figura 1.2 Obras de captación, pozos brocales o excavados, pozo perforados o semisurgentes y manantiales.....	37
Figura 1.3 Diagrama Eh-pH de especies acuosas de arsénico a 25°C y 1 bar de presión. 38	
Figura 1.4 Proceso de análisis de riesgo con la evaluación de riesgos detallado en etapas	42
Figura 2.1 Estructura de los capítulos.....	62
Figura 3.1 Espectrómetro de absorción atómica acoplado al generador de hidruros.	65
Figura 3.2 Espectrómetro de emisión atómica con plasma inducido por microondas con cámara multimodo que permite la generación de especies volátiles.	66
Figura 3.3 Cromatógrafo líquido Shimadzu.	67
Figura 3.4 Cámara de vacío Visiprep™ SPE conectada a una bomba de vacío Neuberger KNF Laboport.....	68
Figura 3.5 Fotómetro de llama Sherwood modelo 360.....	69
Figura 3.6 Esquema del accesorio VGA 77. Adaptado de Guía de uso VGA 77– © Agilent Technologies, Inc.	74
Figura 3.7 Superficie de respuesta 3D para el diseño experimental realizado	76
Figura 3.8 Protocolo de análisis para determinación de arsénico total en agua mediante HG-FAAS	76

Figura 3.9 Sistema en flujo de introducción de la muestra mediante generación de hidruros. Adaptado de Nota de aplicación MSIS – © Agilent Technologies, Inc.....	79
Figura 3.10 Protocolo de análisis para determinación de arsénico total en agua mediante HG-MP-AES	80
Figura 3.11 Diagramas de especies de As V y As III en función del pH	85
Figura 3.12 Diagrama Eh-pH de especies acuosas de arsénico a 25°C y 1 bar de presión.	85
Figura 3.13 Conector de tres vías para acople entre HPLC y HG-MP-AES.....	88
Figura 3.14 Sistema acoplado HPLC HG-MP-AES.....	88
Figura 3.15 Cromatograma correspondiente a la separación de As(III) y As(V).....	89
Figura 3.16 Protocolo de análisis para determinación de As(III) y As(V) en agua mediante SPE/HG-MP-AES	94
Figura 3.17 Valores promedio de concentración de arsénico total y especies de arsénico medidas a diferentes pH	96
Figura 3.18 Mecanismo propuesto para la formación de hidruros para las especies de arsénico presentes en orina utilizando L-cisteína donde R: $-\text{CH}_2\text{C}(\text{NH}_2)\text{COOH}$	101
Figura 3.19 Protocolo de análisis para determinación de especies de arsénico toxicológicamente relevante en orina mediante HG-MP-AES.....	102
Figura 3.20 Comparación de los resultados obtenidos de As orina de trabajadores expuestos mediante HG-FAAS y HG-MP-AES	105
Figura 3.21 Cámara ciclónica de doble paso con nebulizador OneNeb	108

Figura 4.1 Zonas muestreadas en Uruguay para análisis de arsénico total y sus especies inorgánicas	113
Figura 4.2 Localización geográfica de las muestras de agua subterránea tomadas en las localidades de Canelón Chico y San Antonio (Canelones)	120
Figura 4.3 Resultados del análisis de muestras de agua subterránea en Canelones en 2021 mediante HG-MP-AES	121
Figura 4.4 Zona de muestreo del departamento de Colonia	124
Figura 4.5 Localización geográfica de las muestras de agua subterránea tomada en el departamento de Colonia.	125
Figura 4.6 Resultados del análisis de muestras de agua subterránea en Colonia mediante HG-MP-AES	126
Figura 4.7 Resultados del análisis de muestras de agua subterránea diferentes localidades de San José, Montevideo, Florida, Durazno y Rivera mediante HG-MP-AES	130
Figura 5.1 Etapas de la evaluación de riesgo a la salud.	133
Figura 5.2 Relación dosis-respuesta para sustancias con efecto cáncer y sustancias con efecto no cáncer	136
Figura 5.3 Valores de CR según las diferentes franjas etarias para los niveles de arsénico en muestras de agua subterránea extraídas en Canelones en el 2021	145
Figura 5.4 Valores de HQ según las diferentes franjas etarias para los niveles de arsénico en muestras de agua subterránea extraídas en Canelones en el 2021.	147
Figura 5.5 Valor de CR para adultos para los niveles de arsénico en muestras de agua subterránea extraídas en Colonia.	149

Figura 5.6 Valor de HQ para adultos para los niveles de arsénico en muestras de agua subterránea extraídas en Colonia.....	149
Figura 5.7 Porcentaje de participantes agrupados según el tiempo de residencia en el lugar donde se realizó la toma de muestra de agua.....	150
Figura 5.8 Consumo y usos del agua de pozos privados	151
Figura 5.9 Invitaciones para conversatorios comunitarios en San Pedro – Colonia.	152
Figura 5.10 Imágenes tomada de las diferentes instancias de intercambio con la comunidad de San Pedro – Colonia.	152
Figura 6.1 Microrregiones con los municipios del Departamento de Canelones. Extraído de IC, 2010	156
Figura 6.2 Pozos de agua registrados en el Departamento de Canelones.....	157
Figura 6.3 Área de estudio en el municipio de San Antonio.	159
Figura 6.4 Grillas de muestreo según diferentes formas geométricas	160
Figura 6.5 Muestreo en dos etapas: a) elementos conglomerados; b) elementos conglomerados más los seleccionados aleatoriamente para muestrear	161
Figura 6.6 Esquema de trabajo para recolectar muestras de agua y orina y datos de los posibles participantes.....	162
Figura 6.7 Descripción de las muestras y datos a tomar	163
Figura 6.8 Determinaciones analíticas realizadas en las muestras obtenidas en San Antonio	164
Figura 6.9 Lugares muestreados. Realizado en Google Earth.....	166

Figura 6.10 Esquema de los lugares visitados y las muestras tomadas	167
Figura 6.11 Muestras de agua en el laboratorio obtenidas luego de dos días de muestreo	168
Figura 6.12 Resultados de arsénico toxicológicamente relevante en orina expresados en $\mu\text{g L}^{-1}$	170
Figura 6.13 Resultados de creatinina en orina	171
Figura 6.14 Resultados de arsénico toxicológicamente relevante en orina expresados en $\mu\text{g g creatinina}^{-1}$	171
Figura 6.15 Mapeo de los niveles de arsénico en la orina $\mu\text{g g creatinina}^{-1}$	172
Figura 6.16 Resultados del análisis de muestras de agua subterránea en Canelones en 2023 mediante HG-MP-AES	174
Figura 6.17 Mapa de riesgo debido a los niveles de arsénico presentes en el agua subterránea	176
Figura 6.18 Concentración de arsénico medida en las muestras de agua extraída de la canilla de la cocina (A) y de agua extraídas directa del pozo (C)	177
Figura 6.19 Resultado de la especiación analítica realizada en las muestras de agua	178
Figura 6.20 Gráfico de dispersión del índice de exposición y la concentración de arsénico en orina.....	187
Figura 6.21 Resultados de la CR realizada para adultos con los niveles de arsénico presente en el agua para cada pozo.	188
Figura 6.22 Resultados de la CR realizada para adultos con los niveles de arsénico presente en el agua (CR adultos) y CR realizado con los datos promedio de la encuesta (CR adultos datos).....	189

Figura 6.23 Valores de HQ por participante calculado teóricamente y con los datos recabados según encuesta orientada para los niveles de arsénico en muestras de agua subterránea extraídas en Canelones en el 2023	190
Figura 6.24 Imagen de la convocatoria a la comunidad de San Antonio.	192

Lista de abreviaturas

AAS: Espectrometría de absorción atómica

ACGIH: Conferencia Americana de Higienistas Industriales Gubernamentales (de su sigla en inglés: *American Conference of Governmental Industrial Hygienists*)

ADAF: factor de ajuste dependiente de la edad (de su sigla en inglés: *age dependent adjustment factor*)

ADD: dosis diaria promedio (de su sigla en inglés: *average daily dose*)

ANII: Agencia Nacional de Investigación e Innovación

AFS: Espectrometría de fluorescencia atómica (de su sigla en inglés: *Atomic Fluorescence Spectroscopy*)

APHA: Asociación de Salud Pública Americana (de su sigla en inglés: *American Public Health Association*)

AsB: arsenobetaina

AsC: arsenocolina

AsT: concentración total de arsénico

AT: Tiempo Promedio de Exposición (de su sigla en inglés: *averaging time*)

ATP: trifosfato de adenosina

ATSDR: Agencia de Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades (de su sigla en inglés: *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*)

BW: masa corporal (de su sigla en inglés: *body weight*)

CDC: Centro para el Control y Prevención de Enfermedades de Estados Unidos (de su sigla en inglés: *Center for Disease Control and Prevention*)

CEQUIMTOX: Centro Especializado de Química Toxicológica

CR: riesgo de cáncer (de su sigla en inglés: *cancer risk*)

DMA: ácido dimetilarsínico

ED: duración de la exposición (de su sigla en inglés: *exposure duration*)

EF: frecuencia de exposición (de su sigla en inglés: *exposure frequency*)

EFSA: Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (de su sigla en inglés: *European Food Safety Authority*)

EPA: Agencia de Protección Ambiental (de su sigla en inglés: *Environmental Protection Agency*)

ETAAS: espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica (de su sigla en inglés: *Electrothermal Atomic Absorption Spectroscopy*)

G-EQUAS: Esquema de Aseguramiento Externo de la Calidad Alemán (de su sigla en inglés: *The German External Quality Assessment Scheme*)

HACRE: Hidroarsenicismo Crónico Regional Endémico

HG: Generación de hidruros (de su sigla en inglés: *hydride generation*)

HG-AAS: Espectrometría de absorción atómica con generación de hidruros (de su sigla en inglés: *hydride generation atomic absorption spectroscopy*)

HG-AFS: Espectrometría de fluorescencia atómica con generación de hidruros (de su sigla en inglés: *hydride generation atomic fluorescence spectroscopy*)

HG-MP-AES: Espectrometría de Emisión Atómica por Plasma de Microondas con generación de hidruros (de su sigla en inglés: *hydride generation-microwave plasma-atomic emission spectroscopy*)

HPLC: Cromatografía líquida de alta performance (de su sigla en inglés: *high performance liquid chromatography*)

HPLC-HG-MP-AES: Cromatografía líquida de alta performance acoplada a Espectrometría de Emisión Atómica por Plasma de Microondas con generación de hidruros (de su sigla en inglés: *high performance liquid chromatography hydride generation-microwave plasma-atomic emission spectroscopy*)

HQ: coeficiente de peligro (de su sigla en inglés: *Hazard quotient*)

iAs: arsénico inorgánico

IARC: Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (de su sigla en inglés: *International Agency of Research in Cancer*)

ICP-OES: espectrometría de emisión óptica con plasma de acoplamiento inductivo (de su sigla en inglés: *inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy*)

ICP-MS: espectrometría de masas con fuente de plasma de acoplamiento inductivo (de su sigla en inglés: *inductively coupled plasma mass spectrometry*)

IMGA: Asociación Internacional de Geología Médica (de su sigla en inglés: *International Medical Geology Association*)

IR: tasa de ingesta (de su sigla en inglés: *Intake Rate*)

IUPAC: Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (de su sigla en inglés: *International Union of Pure and Applied Chemistry*)

LATU: Laboratorio Tecnológico del Uruguay

LOAEL: Mínimo nivel con efectos adversos observados (de su sigla en inglés: *Lowest Observed Adverse Effect Level*)

LOQ: límite de cuantificación (de su sigla en inglés: *Limit of Quantification*)

LOD: límite de detección (de su sigla en inglés: *Limit of Detection*)

MGAP: Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca

MP-AES: Espectrometría de Emisión Atómica por Plasma de Microondas (de su sigla en inglés: *microwave plasma atomic emission spectroscopy*)

MMA: ácido monometilarsónico

MSIS: Sistema de introducción de muestra multimodo (de su sigla en inglés: *Multimode Sample Introduction System*)

MSP: Ministerio de Salud Pública

NOAEL: Nivel de efecto adverso no observable (de su sigla en inglés: *No observed adverse effect level*)

OSE: Obras Sanitarias del Estado

OMS: Organización Mundial de la Salud

ORP: potencial redox (de su sigla en inglés: ¿????)

PSDVB: Poliestireno divinilbenceno (de su sigla en inglés: *polystyrene divinylbenzene*)

SAX: Intercambio aniónico fuerte (de su sigla en inglés: *Strong Anion Exchange*)

SF: factor de pendiente (de su sigla en inglés: *slope factor*)

SPE: Extracción en fase sólida (de su sigla en inglés: *solid phase extraction*)

SPE/HG-MP-AES: extracción en fase sólida acoplada fuera de línea con Espectrometría de Emisión Atómica por Plasma de Microondas con generación de hidruros (de su sigla en inglés: *solid phase extraction coupled offline with hydride generation-microwave plasma-atomic emission spectroscopy*)

RfD: dosis de referencia (de su sigla en inglés: *Reference Dose*)

RLAU: Red de Laboratorios Ambientales del Uruguay.

RSD: Desviación estándar relativa (de su sigla en inglés: *Relative Standard Deviation*)

SESA: Sociedad Española de Salud Ambiental

TMA: Trimetilarsina

Udelar: Universidad de la República

UNIT: Intituto Uruguayo de Normas Técnicas

UTEC: Universidad Tecnológica - Uruguay

USEPA: Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (de su sigla en inglés: *United States Environmental Protection Agency*)

VIM: Vocabulario Internacional de Metrología

VMP: Valor máximo permitido

WHO: Organización Mundial de la Salud (de su sigla en inglés: *World Health Organization*)

Capítulo 1. Introducción

En este capítulo se presenta de manera clara y concisa, las bases del contenido de la tesis. Comenzaremos con una introducción a las generalidades del tema, abordando la presencia del arsénico en el medio ambiente, la toxicidad y su metabolismo en el cuerpo humano. Luego, nos enfocaremos en el arsénico presente en el agua subterránea y la exposición humana a través de su consumo, revisando antecedentes de la problemática a nivel mundial, regional y nacional.

Se discutirá la evaluación del riesgo para la salud por exposición a contaminantes químicos, con énfasis en el arsénico. Para finalizar, se detallarán los aspectos más relevantes de las determinaciones analíticas, revisando brevemente cada una de las fases del proceso analítico y poniendo especial atención en la toma de muestras, así como en las técnicas y metodologías de análisis utilizadas en esta investigación.

1.1. Generalidades

El arsénico se encuentra ampliamente distribuido en la corteza terrestre; está presente en el agua, el aire y el suelo, en un amplio rango de concentraciones (ATSDR, 2016) donde se puede encontrar en distintos estados de oxidación (-III, 0, III, V) y en formas inorgánicas u orgánicas con diferentes grados de toxicidad humana. Las especies solubles de arsénico presentan los estados de oxidación +III y +V. En un medio fuertemente reductor puede existir As(-III) y As(0); en medios moderadamente reductores y anaerobios predomina la forma trivalente, y en medios oxidativos y aerobios predomina la especie pentavalente (Hug S. J. *et al.*, 2020). Por lo tanto, el estado de oxidación del arsénico y su movilidad están controlados fundamentalmente por las condiciones redox (potencial redox, Eh) y el pH (Lu & Zhu, 2011). El arseniato (As(V)) es la especie arsenical más difundida en el medio ambiente, y la mayoritaria en aguas subterráneas y suelos, mientras que el arsenito (As(III)) es la forma inorgánica reducida y está presente en forma minoritaria. Por su parte, la arsenobetaina es una especie orgánica presente en los sistemas biológicos marinos y se considera de bajo riesgo tóxico.

La contaminación natural de las aguas subterráneas se produce por la liberación de arsénico en sedimentos y acuíferos provenientes de minerales, como la arsenopirita (FeAsS) y otros minerales y compuestos de origen volcánico, a través de los procesos de interacción natural agua-roca (Litter *et al.*, 2019), así como por la elevada concentración de sólidos en solución presente en los acuíferos (Mañay *et al.*, 2013). Cuando los minerales de sulfuro se meteorizan en condiciones oxidativas, el arsénico se oxida a arsenito y finalmente a arseniato que se transporta a través de ríos (Hug S. J. *et al.*, 2020). Además, la actividad humana como la minería, los procesos industriales, la fundición de metales, la producción de pesticidas y de preservantes de madera aportan una contaminación adicional, de origen antropogénico, en suelos y acuíferos (Litter *et al.*, 2019).

Debido a la elevada toxicidad en sus especies inorgánicas, la Organización Mundial de la Salud (OMS) considera el arsénico dentro de las diez sustancias químicas más preocupantes para la salud (OMS, 2022), la Agencia para las sustancias tóxicas y el registro de enfermedades (ATSDR, por su sigla en inglés: *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*) lo ubica en primer lugar de la lista de sustancias peligrosas prioritarias (ATSDR, 2022) y la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC, por su sigla en inglés: *International Agency of Research in Cancer*) lo clasifica dentro del Grupo 1, con suficiente evidencia de su carcinogenicidad en humanos (IARC, 2024). Tomando en consideración lo dicho anteriormente, así como los niveles de cuantificación de las técnicas analíticas disponibles y las mejores tecnologías de abatimiento también disponibles actualmente, la OMS recomienda como valor guía provisional de calidad de agua de bebida: $10 \mu\text{g L}^{-1}$ (OMS, 2022).

La forma química en la que se encuentre el arsénico puede determinar su toxicidad, la que se define como una característica intrínseca por la que se produce un efecto adverso.

Se conoce que los compuestos trivalentes de arsénico inorgánico son los más tóxicos, seguidos por los compuestos pentavalentes inorgánicos. El arsenito es considerado varias veces más tóxico que el arseniato (Castro de Esparza, 2006; WHO, 201; Ramírez, 2013; Mañay, 2013). El orden de toxicidad puede verse de manera decreciente en la Figura 1.1. La magnitud de los efectos tóxicos producidos por el arsénico inorgánico depende de una serie

de factores, incluyendo su estado de oxidación, su estado físico, la velocidad de absorción en las células o la velocidad de eliminación.

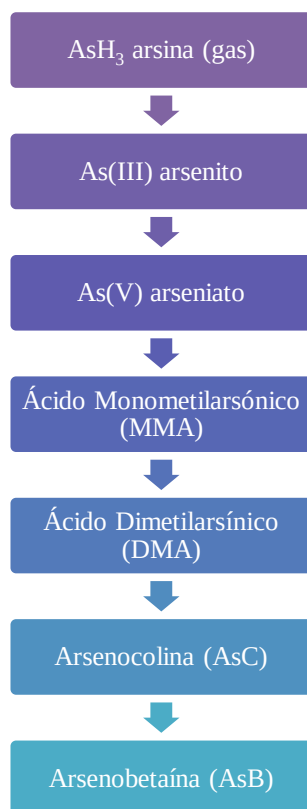


Figura 1.1. Orden de toxicidad de las diferentes especies de arsénico (Mañay , 2013).

Las especies arseniato y arsenito se consideran carcinogénicas, mientras que se demostró que la arsenobetaína (AsB) y arsenocolina (AsC) son poco tóxicas o prácticamente inocuas. Por lo tanto, el rango de toxicidad es amplio y, como tanto la toxicidad como la biodisponibilidad del arsénico dependen de la o las especies vinculadas, resulta conveniente la determinación cuantitativa de cada una de sus especies si se desea evaluar el grado de riesgo a través de los marcadores de exposición.

En el caso de las especies de arsénico inorgánico, el arsenito inhibe un gran número de vías enzimáticas celulares implicadas en la producción de energía, mientras que el arsénico pentavalente, menos tóxico, interfiere con el metabolismo del fosfato, las fosfoproteínas y la formación de trifosfato de adenosina (ATP) (Marlborough & Wilson, 2015).

El arsénico inorgánico puede ser absorbido fácilmente en el tracto gastrointestinal, hasta aproximadamente el 95% de la dosis ingerida (USEPA, 2004; ATSDR, 2009). Se transfiere a la sangre y posteriormente se alojará en el hígado, riñones, pulmones (Castro de Esparza, 2006; ATSDR, 2007). El metabolismo del arsénico se caracteriza por dos tipos de reacciones: reducción de arseniato a arsenito y reacciones de metilación oxidativa, en las cuales el arsenito experimenta una metilación secuencial, que da lugar a productos monometilados (MMA), dimetilados (DMA) y trimetilados (TMA). La oxidación de As(III) a As(V) y la metilación se da por la transferencia del catión metilo (CH_3^+) desde la S-adenosilmetionina que utiliza glutatión como cofactor esencial (ATSDR, 2007; Ramírez, 2013). Dicha metilación facilita la excreción del organismo del arsénico inorgánico. Se estima que la vida media del arsénico inorgánico es de seis horas y sus metabolitos metilados presentan una vida media de más de siete horas. Los porcentajes de excreción renal son para el DMA de 50 a 70%, para el MMA de 15 a 20% y alrededor del 20% se excreta sin metilar (Ramírez, 2013).

En la exposición crónica al arsénico inorgánico por la ingesta de agua contaminada, los primeros síntomas aparecen en la piel, siendo los más frecuentes el cambio de pigmentación y las callosidades y durezas en manos y pies conocidas como hiperqueratosis.

Existen numerosos estudios que demuestran que la exposición a largo plazo al arsénico a través del agua de consumo y los alimentos se puede relacionar con un mayor riesgo de cáncer de piel, pulmones, vejiga, riñones, hígado y cánceres del tracto gastrointestinal (WHO, 2018; Spratlen *et al.*, 2017; Mañay, 2013). Una exposición crónica a arsénico también se ha asociado con enfermedades cardiovasculares y diabetes (Mañay *et al.*, 2019; Wade *et al.*, 2015).

Todas estas manifestaciones clínicas asociadas a la exposición crónica al arsénico a través del agua configuran una entidad nosológica que se ha dado en llamar hidroarsenicismo crónico regional endémico (HACRE) (Litter *et al.*, 2019).

Por lo antes expuesto, para conocer la exposición real de la población al contaminante, se utiliza la medición de la concentración de arsénico inorgánico (As(III) y As(V)) más sus metabolitos (MMA y DMA) en orina, lo que representa el mejor biomarcador de exposición.

La suma de arsénico inorgánico más sus metabolitos metilados se conoce como especies de arsénico toxicológicamente relevantes en orina.

La problemática de la presencia de arsénico en el agua subterránea se aborda desde la Geología Médica. Ésta es una disciplina emergente, que involucra el aporte de las diferentes áreas de las Geociencias con las Biociencias (Davies *et al.*, 2015).

Según la *International Medical Geology Association* (IMGA) “La Geología Médica se define como la ciencia que estudia la relación entre los factores geológicos y los problemas de salud en humanos, animales y plantas. Este campo de estudio es complejo y requiere un enfoque multidisciplinario que involucra una amplia variedad de especialistas, desde geólogos, geoquímicos y médicos hasta veterinarios y biólogos” (IMGA, 2024).

1.2. Arsénico en el agua subterránea

Según Collazo & Montaña (2012) en el Manual del Agua Subterránea del Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, se define agua subterránea como el agua que circula y se aloja en el subsuelo, formando acuíferos. Estos acuíferos se generan principalmente por la infiltración del agua de lluvia. Son las formaciones geológicas que almacenan y transportan agua subterránea, la cual puede ser extraída a través de pozos. Existen diferentes tipos de pozos, que se clasifican en pozos verticales, brocales y semisurgentes, como se ilustra en la Figura 1.2.

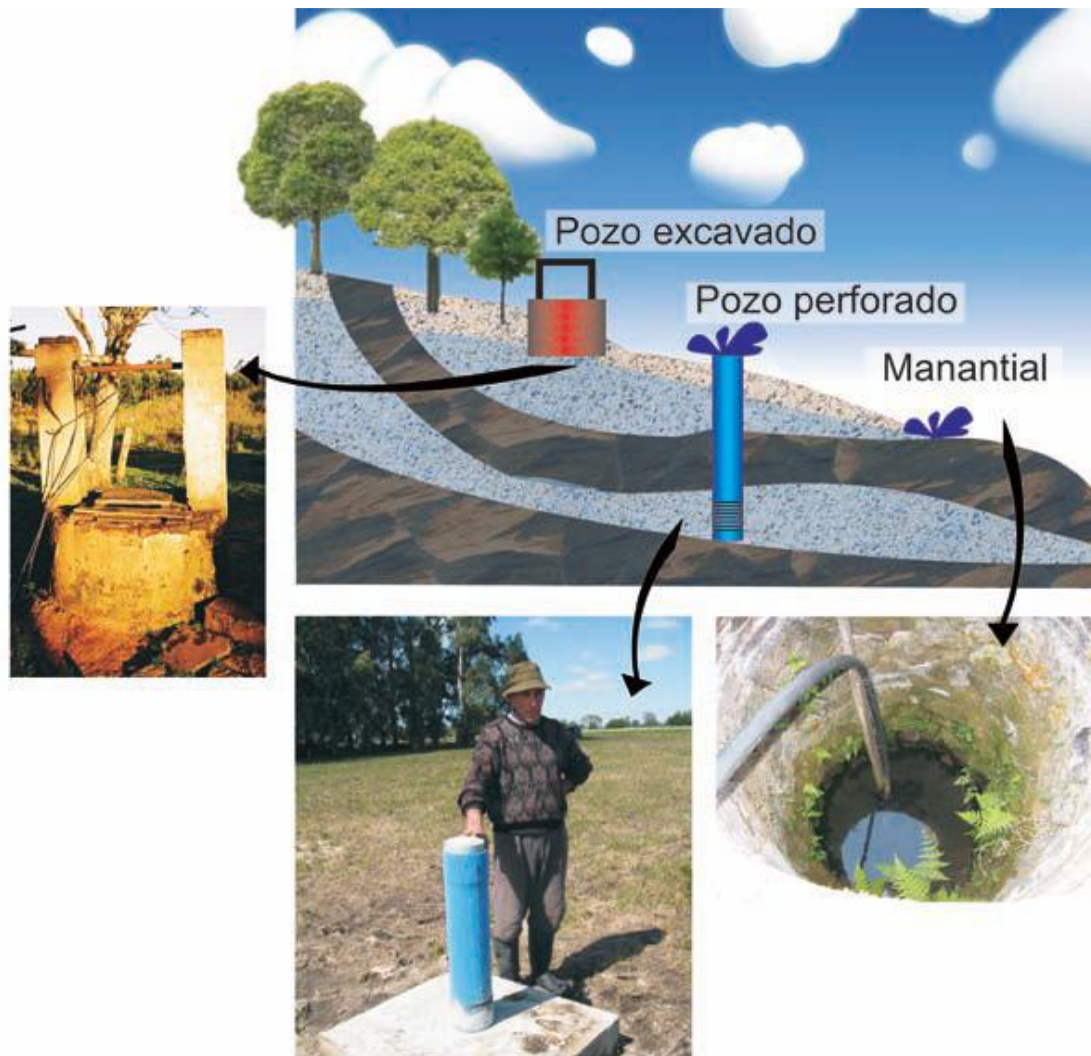


Figura 1.2 Obras de captación, pozos brocales o excavados, pozo perforados o semisurgentes y manantiales. Imagen extraída del Manual de agua subterránea del Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (Collazo & Montaña, 2012)

La diferencia entre los pozos brocales y los pozos semisurgentes radica en su profundidad y estructura de construcción. Los pozos brocales son menos profundos, mientras que los pozos semisurgentes son más profundos, llegando a veces a acuíferos confinados, lo que implica que están rodeados por capas de materiales que limitan la movilidad del agua y la protegen de contaminaciones superficiales.

A lo largo del trabajo de investigación se tomarán muestras de agua subterránea de diferentes tipos de pozo.

Tal como fue descrito, el arsénico inorgánico en agua subterránea se puede encontrar mayoritariamente en los estados de oxidación III y V y, de manera minoritaria o menos frecuente, en los estados 0 y -III. El estado de oxidación y su movilidad dependen de las condiciones redox (potencial redox, Eh) y el pH (Lu & Zhu, 2011). El arsénico inorgánico se encuentra principalmente, formando oxoaniones derivados del ácido arsenioso, (H_3AsO_3), y el ácido arsénico, (H_3AsO_4).

El pH del agua subterránea suele estar entre 6,5 y 8,5 (Smedley & Kinniburgh, 2015) por lo que si observamos el diagrama de *Pourbaix* en la Figura 1.3 podemos ver que, en el rango de pH habitual de las aguas subterráneas, el ácido arsénico se encuentra mono o di protonado (con una o dos cargas negativas) y el ácido arsenioso se encuentra como tal, dependiendo del potencial de las aguas.

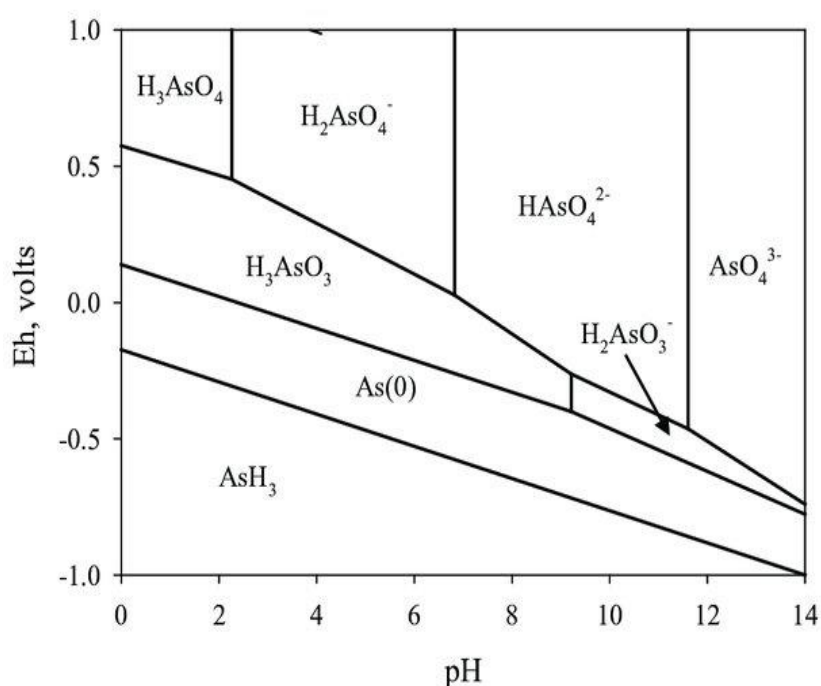


Figura 1.3 Diagrama Eh-pH de especies acuosas de arsénico a 25°C y 1 bar de presión. Extraído de Lu & Zhu, 2011

Por lo anterior, el As(V) es la especie arsenical más difundida en el medio ambiente, y la mayoritaria en aguas subterráneas y suelos, mientras que el As(III) es la forma inorgánica reducida y está presente en forma minoritaria.

La presencia de niveles de arsénico en el agua es un tema prioritario de preocupación ambiental, como se dijo anteriormente, ya que limita el uso del recurso de agua potable y otros propósitos, e impide el crecimiento socioeconómico, la sostenibilidad del uso racional de los suelos y el desarrollo sostenible de la agricultura (Litter, Farías, & Armienta, 2009). Además, por la preocupación antedicha sobre la incidencia en la salud humana y animal, y las repercusiones patológicas que están asociadas al consumo de arsénico, se requiere el desarrollo de diversas metodologías analíticas capaces de estudiar al arsénico en sus diferentes formas y concentraciones. Asimismo, existe la necesidad del análisis y especiación de arsénico en orina, como biomarcador de exposición al arsénico inorgánico, dada su toxicidad.

Los niveles altos de concentraciones de arsénico en el agua subterránea utilizadas para consumo pueden suponer un riesgo para la salud y limitar la reserva de agua apta para uso (Giménez-Forcada & Ordoñez, 2019) porque compromete la calidad del recurso, limitando su utilización como agua de consumo.

1.2.1. Antecedentes en el mundo

La presencia de arsénico en el agua subterránea de consumo humano es una preocupación a nivel mundial. En 2018 Ahmad *et al.* publicaban que existen más de 200 millones de personas en todo el mundo expuestas a altas concentraciones de arsénico principalmente de origen natural, mientras que en 2024 Mukherjee *et al.* informan que hay entre 300 y 500 millones de personas expuestas al arsénico presente naturalmente en el agua subterránea (Mukherjee *et al.*, 2024). Este problema afecta, a personas de todas las edades, en países de bajos y altos ingresos, pero con mayor impacto en las regiones más pobres. Las principales regiones afectadas por la contaminación por arsénico en el agua subterránea incluyen países de Asia, como Bangladesh, India, China y Mongolia, así como de América, Argentina, Chile, México y Estados Unidos. Los niveles de arsénico en estas áreas varían considerablemente. Por ejemplo, en Bangladesh e India se han registrado concentraciones que oscilan desde $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ hasta $3200 \mu\text{g L}^{-1}$ (Smedley & Kinniburgh, 2015). La mayor intoxicación masiva de la población ocurrió en Bangladesh durante la década de 1990, cuando alrededor de 100

millones de personas se vieron afectadas por consumir agua subterránea contaminada con arsénico de origen geogénico (García, 2012; Hug, *et al.*, 2020).

En países como México y Estados Unidos también se han reportado niveles de arsénico en el agua subterránea superiores a $10 \mu\text{g L}^{-1}$ (Litter *et al.*, 2020) lo que afecta a más de 2,5 millones de personas en México y a 30 millones en Estados Unidos, quienes consumen esas aguas (Polya & Middleton, 2017).

1.2.2. Antecedentes en la región

En América Latina, el problema afecta al menos a 14 países, incluyendo a Uruguay. Se estima que alrededor de 14 millones de personas están expuestas a niveles de arsénico superiores a $10 \mu\text{g L}^{-1}$ (Litter *et al.*, 2019), el valor máximo recomendado por la OMS. El principal país afectado es Argentina, donde hace más de 100 años se documentaban los primeros casos de HACRE reportados en Córdoba (García, 2012). En este país, se estima que al menos 4 millones de personas beben en forma permanente agua con niveles de arsénico por encima de $50 \mu\text{g L}^{-1}$, poniendo en riesgo su salud.

1.2.3. Antecedentes en Uruguay

Si nos centramos en Uruguay, los primeros hallazgos de arsénico en agua subterránea los describen Manganelli *et al.* (2007) en los diferentes acuíferos de la zona suroeste de nuestro país, Chuy, Raigón y Mercedes. El valor medio para Chuy fue de $20,6 \mu\text{g L}^{-1}$, para Raigón en sus dos localidades de estudio fue de $16,9$ y $9,6 \mu\text{g L}^{-1}$ y para el acuífero Mercedes, que también se estudió en dos localidades, las medias fueron de $34,9$ y $19,9 \mu\text{g L}^{-1}$. Posteriormente en el año 2013 el trabajo de Mañay *et al.* (2013) enfocado en la Geología Médica, muestra específicamente que la media del resultado de arsénico en 32 muestras de agua de perforaciones en el acuífero Raigón en el departamento de San José fue de $14,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Existen trabajos de otros investigadores que también dan cuenta de perforaciones en diferentes puntos del país con niveles de arsénico superiores a los recomendados por la OMS (Machado, Bühl & Mañay, 2019; Pamoukaghlián *et al.*, 2023; Alvareda *et al.*, 2023; Bühl *et al.*, 2023). En la actualidad, según información brindada por

OSE, Obras Sanitarias del Estado, en Uruguay existen 163 pozos de abastecimiento de OSE que presentan niveles de arsénico superiores a $10 \mu\text{g L}^{-1}$ (Cabrera, 2021; Wu, *et al.*, 2021), destacándose la gran cantidad de localidades afectadas en los departamentos de Colonia y Canelones.

En Uruguay, desde 2011, está vigente la norma UNIT-ISO 833:2010, que establece los requisitos para considerar el agua como potable (Decreto 110/011, 2011). En cuanto a los requisitos referentes al arsénico, el límite máximo permitido fue reducido de $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ a $0,02 \text{ mg L}^{-1}$ ($20 \mu\text{g L}^{-1}$), y se establece un valor objetivo de $10 \mu\text{g L}^{-1}$, tal como el valor guía provisional recomendado por la OMS desde la segunda edición de *Guidelines for drinking-water quality* (WHO, 1993). Este valor se mantiene hasta la actualidad (WHO, 2017; OMS, 2022).

Desde 2010, OSE ha notificado problemáticas con el agua suministrada en algunas localidades donde superan el valor de $20 \mu\text{g L}^{-1}$. Si bien OSE abastece al 99 % de la población nucleada (OSE, AGUA - Abastecimiento, 2024) ya sea con agua superficial o subterránea y mantiene todos los controles necesarios para abastecer de agua potable a la población, existe una parte de la misma, que no accede al suministro de agua estatal, población rural dispersa, y se abastece de sus propios pozos. En estos pozos privados no se lleva a cabo un monitoreo sistemático, ni un control de la potabilidad del agua. Cuando se realizan análisis, suelen ser a iniciativa del propietario y generalmente se limitan a controles microbiológicos y de algunos parámetros físicos, sin incluir la evaluación de los niveles de arsénico. Como resultado, se desconoce la concentración de arsénico presente en el agua que consumen las personas que dependen de estos pozos para su abastecimiento.

En esta tesis, se plantea mostrar niveles que aparecen en aguas subterráneas utilizada para consumo humano en localidades rurales que utilizan aguas de sus propios pozos que no están sometidas a control, dado que están fuera del suministro estatal de agua. Asimismo, se busca evidenciar el uso extendido del agua subterránea en estas comunidades y, a partir del consumo y los niveles de arsénico, resaltar los riesgos para la salud de la población que la utiliza. Con este fin, planteamos realizar una evaluación del riesgo a la salud por exposición al arsénico a través del consumo de agua subterránea, que no tienen antecedentes en Uruguay, constituyendo así un trabajo inédito en nuestro país.

La evaluación del riesgo para la salud por exposición a sustancias químicas es un proceso diseñado para identificar y cuantificar los riesgos que estas sustancias pueden representar para la salud humana. En el siguiente apartado, se ofrecerá una visión general de este proceso.

1.3. Evaluación de riesgos a la salud por exposición a arsénico a través del consumo de agua

La evaluación de riesgos a la salud como se dijo anteriormente es un proceso dentro de otro proceso mayor que es el análisis de riesgo a la salud, que incluye también el manejo y la comunicación de riesgos (Figura 1.4).

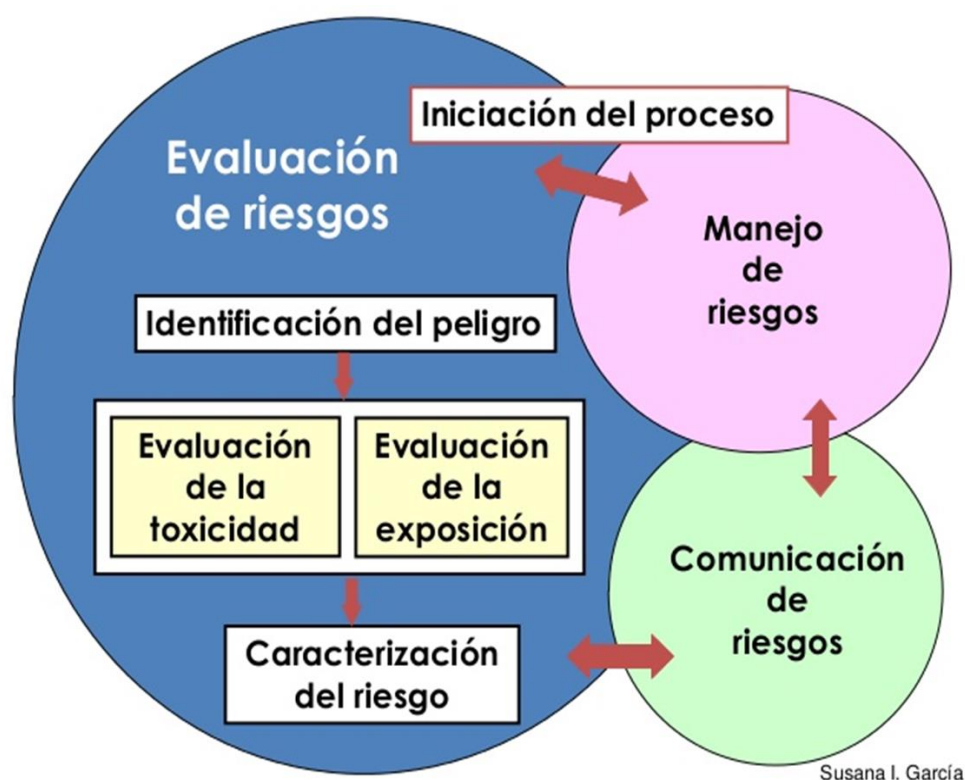


Figura 1.4 Proceso de análisis de riesgo con la evaluación de riesgos detallado en etapas. Extraído de García, 2012

Según las pautas fijadas por organismos internacionales, la evaluación de riesgos para la salud humana por exposición a contaminantes químicos requiere de la identificación,

recopilación e integración de información relativa a los peligros que supone para la salud el contaminante, la exposición humana al mismo y las relaciones entre exposición, dosis y efectos adversos (OMS, 2021).

Según una publicación de la OMS (2021) la evaluación de los riesgos surge a partir de estudios realizados en el área ambiental, para comparar problemas ambientales que plantean distintos tipos y grados de riesgos para la salud. La misma describe los posibles efectos adversos en base a la evaluación de los resultados de investigaciones epidemiológicas, clínicas, toxicológicas y ambientales. La extrapolación de estos resultados permite predecir el tipo y la magnitud de los efectos en la salud bajo determinadas condiciones de exposición, así como la evaluación del número y características de las personas potencialmente expuestas a diferentes niveles y duraciones. Finalmente, permite la integración de los resultados en una estimación de la probabilidad de ocurrencia de efectos adversos sobre una población determinada. La evaluación de riesgo también incluye una caracterización de las incertidumbres inherentes al proceso de inferencia de los riesgos.

Estas etapas del proceso (Figura 1.4) se pueden adaptar y aplicar al análisis de riesgos sanitarios y comprenden cuatro elementos básicos:

- Identificación del peligro: identifica todas aquellas situaciones capaces de generar efectos adversos en la salud en un escenario concreto de exposición. Asimismo, define los tipos de efectos en la salud que pueden producirse, basándose en datos toxicológicos obtenidos en estudios epidemiológicos o de laboratorio.
- Evaluación de la relación dosis-respuesta: relaciona la probabilidad de cierto efecto en la salud con la dosis de contaminante o la magnitud de la exposición.
- Evaluación de la exposición: combina datos sobre la distribución y las concentraciones de la contaminación en el medio a los efectos de estimar la cantidad de contaminantes a los que están expuestos los seres humanos. Para medir la magnitud de ciertas exposiciones, se utilizan biomarcadores.

La evaluación de la exposición se utiliza para determinar si las personas están en contacto con una sustancia química potencialmente peligrosa y, de ser así, cuánto, por qué vía, a través de qué medios y durante cuánto tiempo. Debido a que la descripción del peligro y la descripción del riesgo dependen de la vía (oral, inhalación o dérmica) y la duración de la exposición (a corto, medio o largo plazo), el conocimiento de cómo y cuándo las personas pueden estar expuestas es relevante para la determinación de un valor de referencia u orientativo adecuado.

- Caracterización del riesgo: combina las evaluaciones de la exposición y de la relación dosis-respuesta para calcular el riesgo sanitario estimado, como el número previsible de personas que contraerán cierta enfermedad en una población determinada.

Este proceso es fundamental para la regulación y gestión de sustancias químicas en diversos contextos, incluyendo el agua potable, alimentos y productos industriales.

En el marco de la herramienta de evaluación de riesgos de la OMS (OMS, 2017; OMS, 2021) y considerando los antecedentes de exposición al arsénico en la población de diversas localidades, se propone un enfoque para analizar el impacto del arsénico como contaminante en el agua de consumo. En particular, se profundiza en un trabajo centrado en la evaluación del riesgo, que incluye una evaluación detallada de la exposición. Este proceso implica la determinación del biomarcador de exposición al arsénico inorgánico presente en el agua subterránea, las especies de arsénico toxicológicamente relevantes en orina.

De acuerdo a lo anterior, es muy importante contar con estudios técnico-científicos de evaluación de riesgos a la salud por consumo de agua con niveles de arsénico en bajas concentraciones. Asimismo, conocer los niveles basales de arsénico en orina en la población afectada, es fundamental para poder correlacionar con la exposición a través del consumo de agua.

Para llevar a cabo un estudio de evaluación de riesgos, es fundamental contar con metodologías analíticas que permitan determinar el contaminante tanto en el ambiente como en las muestras biológicas. En el siguiente apartado, nos centraremos en las determinaciones

analíticas, comenzando con la fase preanalítica, que incluye la toma de muestras, y continuaremos con la fase analítica, donde abordaremos la determinación del contaminante.

1.4. Determinaciones analíticas

En los procesos analíticos tenemos tres grandes etapas, la fase preanalítica, la analítica y la postanalítica. Cada uno de estos pasos es fundamental para asegurar que los resultados del análisis sean precisos y confiables.

Para realizar una correcta determinación de arsénico total, así como de sus especies de arsénico en agua u orina es de suma importancia definir las condiciones para la toma de muestra y su conservación, así como el método que se va a utilizar (Litter, Farías & Armienta, 2009).

1.4.1. Fase preanalítica

La fase preanalítica es la etapa del proceso analítico que incluye todas las actividades realizadas antes de que se lleve a cabo el análisis propiamente dicho. Esta fase es crucial, ya que puede influir significativamente en la calidad y precisión de los resultados.

Incluye varias etapas, como la selección de la muestra, la toma de muestra, la manipulación, el transporte y el almacenamiento, hasta llegar al análisis incluyendo la verificación de la cadena de custodia en las diferentes etapas. Por lo tanto, es esencial definir claramente el proceso de toma de muestra para asegurarnos de que los resultados obtenidos sean adecuados para nuestro propósito.

Las metodologías de recolección, preservación y acondicionamiento de muestras para análisis en el laboratorio tienen gran importancia, debido a que se debe asegurar la integridad de la muestra para que represente lo que realmente se quiere evaluar.

La composición de las muestras puede cambiar debido a procesos químicos, físicos o biológicos. La concentración y estabilidad de los analitos se pueden ver alteradas por

distintos procesos como son la volatilización, difusión, precipitación, hidrólisis, oxidación y por efectos fotoquímicos o microbiológicos. Por lo tanto, es necesario demostrar la que el método de preservación elegido es adecuado para conservar los analitos en estudio.

1.4.1.1. Toma de muestras de agua

Para realizar una correcta toma de muestra de agua para posterior análisis de arsénico total y de sus especies, en la bibliografía se recomienda la utilización de preservantes, además del acondicionamiento y el transporte.

Los ácidos han sido los más utilizados en la historia como preservantes. McCleskey, Nordstrom, & Maest (2004) y Silva & Ciminelli (2009) mencionan entre ellos, HCl, HNO₃ y, además, la posibilidad de almacenar las muestras a temperatura ambiente y refrigeradas. En cambio, Sigrist (2009), en su tesis de doctorado, evaluó las concentraciones de ácidos y la posibilidad de la no utilización de preservantes, dado que el HNO₃ tiene capacidades oxidantes y puede promover la interconversión de las especies de arsénico inorgánico en agua. Los experimentos de preservación de arsenicales inorgánicos muestran que las velocidades de interconversión As(III)/As(V) en agua de alta pureza son muy lentas. Sigrist (2009) concluye que la ausencia de compuestos oxidantes o reductores en estas soluciones permite que, aún a temperatura ambiente, la distribución de las especies no muestre cambios significativos al menos por el término de dos o tres semanas para concentraciones de As(III) y As(V) de hasta 50 µg L⁻¹, sin adición de reactivos y expuestas a la luz.

La refrigeración a temperaturas de 4-5 °C extiende los períodos de conservación de las soluciones puras de As(III) /As(V) debido a la disminución de las cinéticas de reacción y la inhibición del crecimiento microbiano. Asimismo, Sigrist (2009) demuestra que la refrigeración redujo el pasaje de As(III) a As(V), mostrando que la estabilidad de la interconversión pasó de 7 días a temperatura ambiente a 30 días en refrigerador y sin cambios significativos en la concentración de arsénico total.

Además, se considera importante tomar las muestras de modo que no exista cámara de aire en el recipiente, ya que el ambiente oxidante del aire podría favorecer la oxidación de As(III) a As(V) (Sigrist, 2009).

En nuestro caso se optó por el no agregado de preservantes, llenado del recipiente hasta el borde y la refrigeración de la muestra. La estabilidad de la misma, ya sea para la determinación de arsénico total o para la determinación de As(III) y A(V) se evaluó como trabajo de esta Tesis y será descrita en el Capítulo 3. En consecuencia, se elaboró un plan para la toma de muestras de agua que se describe en el Apéndice 1.

1.4.1.2. Toma de muestras de orina

La orina es la muestra de elección para realizar la evaluación de la exposición al arsénico inorgánico (Hays *et al.*, 2018). Los niveles de arsénico en orina reflejan exposiciones recientes y están altamente correlacionados con la ingesta de arsénico proveniente de fuentes de agua potable y de la dieta (CDC, 2019). La concentración de los contaminantes varía según el momento de recolección de la muestra, por lo que en algunas circunstancias se define cuándo es el mejor momento del día para realizar la recolección (ACGIH, 2024). A veces, las muestras se toman de manera aislada y sin un horario definido, lo que hace esencial conocer los niveles de creatinina en las muestras de orina. Esto es importante para determinar si la muestra es adecuada para realizar la evaluación, ya que la creatinina sirve como un indicador de la dilución de la orina y ayuda a interpretar los resultados de manera más precisa (CDC, 2019; ACGIH, 2024). La ACGIH (por sus siglas en inglés *American Conference of Governmental Industrial Hygienists*) define que una muestra de orina puede no ser adecuada por estar muy concentrada o diluida por lo que utiliza criterios de la OMS donde establece que el nivel de creatinina en la orina debe estar entre 0,3 y 3,0 g L⁻¹. La variación diaria del arsénico en orina corregido por creatinina es relativamente pequeña cuando la ingesta es constante.

Para la exposición ambiental y dietaria de población general, ocupacionalmente no expuesta, no se ha establecido un nivel específico de especies de arsénico toxicológicamente relevantes en orina como referencia. Reportes de la ATSDR (2007) muestran que se puede encontrar un nivel de arsénico total (incluye a la arsenobetaína) de hasta 100 µg L⁻¹. Por otro lado, los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC, su sigla en inglés: *Centers for Disease Control and Prevention*) en el *National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals* (CDC, 2019) reportan valores medidos en la población de Estados

Unidos, donde la media de las especies toxicológicamente relevantes corregida por creatinina en orina es $6,31 \mu\text{g g creatinina}^{-1}$.

Al igual que en el agua, se estudió la estabilidad de la orina para la determinación de especies de arsénico toxicológicamente relevantes, que se describe en el Capítulo 3. Como resultado de este análisis, se formuló un plan de muestreo para la orina que se presenta en el Apéndice 4.

1.4.2. Fase analítica

La fase analítica se centra en la aplicación de métodos y técnicas para obtener información del analito en estudio en la muestra. La misma es crucial para asegurar que los resultados obtenidos sean confiables y útiles para tomar decisiones basadas en evidencia.

En esta fase, se evalúan las técnicas y métodos analíticos a utilizar, para luego proceder con el análisis.

1.4.2.1. Determinaciones analíticas

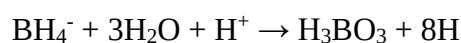
Para la determinación del arsénico, existen varias técnicas; dentro de ellas, las espectrométricas son muy relevantes y ampliamente utilizadas, como, la espectrometría de absorción atómica con atomización electroterma (ETAAS), la espectrometría óptica de emisión con acoplamiento inductivo (ICP-OES), la espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS), fluorescencia atómica (AFS) y la espectrometría de absorción atómica (AAS) (Ungureanu *et al.*, 2015).

Cuando las técnicas permiten la introducción de muestras mediante la generación de especies volátiles, como en el caso particular del arsénico con la formación de hidruros (HG), la sensibilidad puede aumentar entre 10 y 100 veces en comparación con una determinación convencional (Yu *et al.*, 2020). En la generación de hidruros, el arsénico forma hidruros covalentes volátiles por reacción con un reductor, generalmente, tetrahidrobórato de sodio en solución ácida, y su generación como gas (arsinas) permite que sean transferidos al sitio donde serán atomizados (RSA-CONICET, 2018).

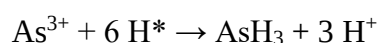
Dědina & Tsalev (1995) mencionan en su libro que, antes de la formación de arsina, se lleva a cabo una prerreducción del arsénico presente en la muestra. Este paso es crucial, ya que transformar el arsénico en su forma más adecuada, arsénico trivalente (As III) para la generación de hidruros. Los procedimientos más comúnmente utilizados para esta prerreducción incluyen el uso de yoduros (KI o NaI), cloruro de estaño (SnCl₂) (Welz y Sperling, 1999) y L-cisteína. El yoduro facilita la conversión del arsénico a su forma de arsina, y su uso es común debido a su efectividad y disponibilidad. La L-cisteína es un aminoácido que se emplea como un agente reductor alternativo que, además de su eficacia, puede ofrecer ventajas en términos de menor toxicidad y mayor biocompatibilidad en comparación con otros reductores químicos.

La elección del agente reductor puede influir en la eficiencia de la generación de arsina y, por ende, en la sensibilidad y precisión del análisis de arsénico. Estos procedimientos de prerreducción son esenciales para asegurar que el arsénico presente en las muestras se convierta de manera efectiva en la forma gaseosa que se detectará en las etapas posteriores del análisis.

El mecanismo propuesto de formación de hidruros es descrito también por Dědina & Tsalev (1995), quienes proponen que la reducción del analito con tetrahidro borato de sodio (NaBH₄) ocurre en medio ácido (BH₄⁻/ usualmente HCl). El NaBH₄ actúa como un agente reductor muy potente, descomponiéndose en medio ácido para liberar hidrógeno atómico de acuerdo con la siguiente reacción:



El hidrógeno atómico es el responsable de reducir al arsénico trivalente para formar arsina. La reacción que describe esta transformación es la siguiente:



La arsina es un hidruro volátil y esta volatilidad facilita la separación del arsénico del resto de la matriz. Posteriormente a la formación del hidruro, ocurre la etapa de atomización, en la que la arsina es descompuesta térmicamente en un atomizador, como un horno de grafito,

una llama o un plasma. Durante este proceso, la arsina se descompone liberando átomos individuales de arsénico. Estos átomos son posteriormente detectados mediante técnicas analíticas como la espectrometría de absorción atómica, la espectrometría de emisión atómica o la espectrometría de masas.

En particular, para el trabajo con orina donde se debe determinar las especies toxicológicamente relevantes (As III + As V + DMA + MMA), la espectrometría atómica con generación de hidruros es la técnica de elección, ya que estas cuatro especies forman hidruros, mientras que las especies orgánicas provenientes de alimentos, como por ejemplo la arsenobetaína, no forman hidruros (Brima, Jenkins & Harris, 2006).

Cuando en la determinación analítica se necesita identificar y/o cuantificar las especies de una sustancia, se debe realizar lo que se conoce como especiación analítica. En la siguiente subsección entraremos en detalles sobre la misma.

1.4.2.2. Especiación analítica

La especiación es definida por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC de su sigla en inglés: *International Union of Pure and Applied Chemistry*), como la distribución de las especies químicas de un elemento en un sistema específico, entendiendo por especies químicas a las formas específicas de un elemento químico. Las diferentes formas pueden ser: composición isotópica, estado de oxidación y/o formación de complejos o estructuras moleculares. La especiación analítica es la separación, identificación y/o determinación de las concentraciones de una o más especies o formas individuales de un elemento químico que constituyen la concentración total del mismo en esa matriz (Templeton *et al.*, 2000).

Aunque la determinación de la concentración total de elementos a nivel de trazas es todavía importante, el conocimiento de la especiación brinda información relevante en estudios de bioaccesibilidad, biodisponibilidad, toxicidad, movilidad y bioacumulación (Lai *et al.*, 2004; Litter, Farías & Armienta, 2009). Como hemos mencionado anteriormente, el conocimiento del estado redox de las especies de arsénico permite interpretar cuestiones relacionadas con

su toxicidad, movilidad, transformaciones geoquímicas y eficiencia de los procesos tecnológicos utilizados para su remoción (Sigrist, 2009).

Para poder realizar la determinación de las especies de arsénico en agua, las técnicas antes mencionadas pueden acoplarse con técnicas cromatográficas, de esta forma se logra la separación previa de las especies teniendo en cuenta la diferencia de pKa de las mismas y por lo tanto su diferente grado de ionización a determinado pH.

La mayoría de las metodologías para el análisis de especies de arsénico se fundamentan en una separación previa de las diferentes especies, combinada con un sistema de detección capaz de alcanzar bajos límites de cuantificación. Frecuentemente, estas metodologías utilizan dos técnicas analíticas acopladas, lo que da la posibilidad de identificar y de cuantificar cada especie por separado.

El acoplamiento o hibridación instrumental es “la combinación a través de una interfase de dos técnicas analíticas independientes, que genera una información única e integral de la composición de la muestra y se caracteriza por ser más completa que la información alcanzada independientemente por cada técnica” (Varcárcel & Gomez Hens, 2003).

Para la especiación de arsénico se considera la técnica de referencia o “gold technique” a la cromatografía líquida acoplada a espectrometría atómica (con o sin generación de hidruros) con detección de masas (HPLC-ICP-MS; HPLC-HG-ICP-MS; Terlecka, 2005; Ardini, Dan & Grott, 2020). Existen a la fecha, numerosas estrategias para la especiación de arsénico, muchas de las cuales se han desarrollado alternativamente, debido a los altos costos tanto del equipamiento como operativos de las técnicas ICP-MS.

Las técnicas acopladas pueden clasificarse como: en línea (*on-line*) o fuera de línea (*off-line*).

En el caso de una metodología *on-line*, la salida de una técnica analítica se acopla directamente a la entrada de otra, permitiendo un flujo continuo de análisis. Un ejemplo típico es la salida del HPLC, que está conectada directamente a la entrada del detector del

ICP-MS, lo que permite la separación de las especies de arsénico y su detección en tiempo real sin interrupciones.

Por otro lado, en las metodologías *off-line*, uno o varios pasos del proceso analítico pueden diferirse en el tiempo. Por ejemplo, se puede realizar una separación previa mediante extracción en fase sólida (SPE), que es una técnica efectiva para separar analitos de una muestra antes de su análisis en otro equipo, como un espectrómetro de absorción atómica. Este tipo de análisis no ocurre de manera continua.

El desarrollo de las metodologías se detallará en el Capítulo 3, donde se verá cómo se procede a determinar el arsénico total y sus especies y, además, las especies de arsénico toxicológicamente relevantes como biomarcador de exposición.

Para garantizar la calidad de un resultado analítico y confirmar que un método es adecuado para su propósito, se lleva a cabo la validación de la metodología analítica, por lo que, en la siguiente subsección se darán los principales lineamientos de validación.

1.4.2.3. Validación

Para asegurar que las metodologías analíticas utilizadas son adecuadas para el fin propuesto se realiza la validación analítica, la que es definida por diferentes guías o normas de la siguiente forma:

- “Confirmación mediante el examen y la aparición de evidencias objetivas de que se han cumplido los requisitos particulares para una utilización específica prevista”. ISO 9001.
- “Confirmación mediante el suministro de evidencia objetiva de que se han cumplido los requisitos para una utilización o aplicación específica prevista”. OUA - Organismo Uruguayo de Acreditación.
- “Validar un método es el proceso para definir un requisito analítico, y la confirmación de que cuenta con capacidades consistentes con las aplicaciones

requeridas. Inherente a esto está la necesidad de evaluar el desempeño del método” (Magnusson & Örnemark, 2014).

Las características de desempeño evaluadas habitualmente durante la validación de una metodología analítica se incluyen a continuación con una breve definición de las mismas. En este caso, las definiciones se basan en la “La Adecuación al Uso de los Métodos Analíticos. Una Guía de Laboratorio para Validación de Métodos y Temas” – “Guía Eurachem” (Magnusson & Örnemark, 2014).

Características de desempeño:

- **Selectividad**

La selectividad es la capacidad de un método para distinguir el analito de interés de otras sustancias presentes en la muestra. Un método selectivo proporciona resultados precisos y específicos, minimizando la interferencia de compuestos que podrían afectar la cuantificación del analito.

- **Límite de Detección (LOD)**

El límite de detección es la concentración más baja de un analito que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, en un análisis.

- **Límite de Cuantificación (LOQ)**

El límite de cuantificación es la menor concentración de un analito que puede ser cuantificada con la precisión y veracidad deseada. Es fundamental para garantizar que las mediciones estén dentro de un rango donde los resultados son fiables y pueden ser reportados.

- **Intervalo de Trabajo**

El intervalo de trabajo es el rango de concentraciones en el cual el método puede ser utilizado con la precisión y veracidad deseada. Este intervalo debe ser definido durante la validación del método y es crucial para garantizar que se obtengan resultados fiables dentro de este rango.

- Sensibilidad Analítica

La sensibilidad analítica es la capacidad del método para producir un cambio significativo en la señal analítica en respuesta a un cambio en la concentración del analito. Una mayor sensibilidad permite detectar y cuantificar analitos en concentraciones más bajas.

- Veracidad

La veracidad es la cercanía del resultado analítico al valor verdadero del analito. Se evalúa mediante el sesgo y la recuperación:

- Sesgo:

La diferencia sistemática entre el valor promedio del resultado obtenido y el valor verdadero.

- Recuperación:

La capacidad del método para recuperar el analito cuando se añade a una muestra en una concentración conocida o cuando se trabaja con un material de referencia certificado.

- Precisión

La precisión se refiere a la consistencia de los resultados obtenidos por el método y se evalúa en términos de:

- Repetibilidad:

La variabilidad de los resultados obtenidos cuando se analizan múltiples réplicas de la misma muestra bajo las mismas condiciones.

- Precisión Intermedia:

La variabilidad de los resultados obtenidos en condiciones diferentes, como diferentes días o diferentes operadores.

- Reproducibilidad:

La variabilidad de los resultados obtenidos en laboratorios diferentes, utilizando la misma técnica y condiciones de análisis.

- Robustez

La robustez es la capacidad de un método para permanecer inalterado ante pequeñas variaciones en las condiciones del procedimiento analítico, como cambios en la temperatura, pH o tipo de reactivos. Un método robusto proporciona resultados fiables incluso cuando se producen variaciones menores en las condiciones experimentales.

Existen otras guías de validación que se adecuan más al trabajo con muestras biológicas como el caso de la Guía Forense (*Standard Practices for Method Validation in Forensic Toxicology*) (SWGTOX, 2013) y que, si bien varios de los arámetros de desempeño que recomiendan son los mismos, existen otros que son más adecuados para el trabajo con este tipo de muestras.

Esta Guía define a la validación como “el proceso mediante el cual se llevan a cabo un conjunto de experimentos que permiten estimar de manera confiable la eficacia y la fiabilidad de un método analítico o de una modificación a un método previamente validado. El objetivo de la validación es establecer evidencia objetiva que demuestre que un método es capaz de operar exitosamente en el nivel de su uso previsto, así como identificar las limitaciones del método bajo condiciones normales de operación. Aunque se reconoce que el rendimiento del método puede variar durante el análisis diario de muestras de casos reales, los parámetros de validación evaluados sirven como estimaciones del verdadero desempeño del método”.

Los parámetros de desempeño que aparecen en esta Guía junto con una breve definición son los siguientes:

- Sesgo (*Bias*):

Grado de concordancia entre la media de los resultados de mediciones de un analito y el valor verdadero (o aceptado) del mismo. Se reporta como una diferencia porcentual. Los términos precisión o veracidad también pueden usarse para describir el sesgo.

- Modelo de Calibración (*Calibration Model*):

Modelo matemático que demuestra la relación entre la concentración de un analito y la respuesta correspondiente del instrumento.

- *Carryover*:
Aparición de señal de analito en muestras subsiguientes tras el análisis de una muestra positiva.
- Estudios de Interferencias (*Interference Studies*):
Evaluación de componentes de la matriz, otros fármacos y metabolitos, estándar interno, impurezas, que pueden afectar la capacidad para detectar, identificar o cuantificar un analito objetivo.
- Límite de Detección (*Limit of Detection*):
Estimación de la concentración más baja de un analito en una muestra que puede diferenciarse de manera confiable de una matriz en blanco e identificarse mediante el método analítico.
- Límite de Cuantificación (*Limit of Quantitation*):
Estimación de la concentración más baja de un analito en una muestra que puede medirse de manera confiable con sesgo y precisión aceptables.
- Precisión (*Precision*):
Medida de la cercanía de los resultados obtenidos de múltiples muestreos de una misma muestra homogénea; se expresa numéricamente como imprecisión.
- Integridad de Dilución (*Dilution Integrity*):
Aseguramiento de que el sesgo y la precisión no se ven significativamente afectados cuando se diluye una muestra.
- Estabilidad (*Stability*):
Capacidad de un analito para resistir la transformación química en una matriz bajo condiciones específicas durante periodos de tiempo establecidos.

La Guía Forense incluye ciertos parámetros de desempeño que son particularmente relevantes para el análisis de muestras biológicas y que no se encuentran explícitamente en las recomendaciones de EURACHEM. Estos parámetros son esenciales para abordar las peculiaridades inherentes a las matrices biológicas y asegurar la fiabilidad de los resultados analíticos en el contexto forense. Entre ellos se encuentran: integridad de dilución y estabilidad.

Estos parámetros reflejan un enfoque más específico y adaptado a las características de las muestras biológicas en el contexto forense, destacando la necesidad de considerar factores adicionales que pueden influir en el rendimiento del método analítico en comparación con las guías más generales como EURACHEM.

Cada una de las metodologías desarrolladas en este trabajo fue validada siguiendo las guías antes mencionadas.

1.4.3. Fase postanalítica

La fase postanalítica es la etapa final del proceso analítico, que se lleva a cabo después de obtener los resultados. En esta fase, se analizan los datos, se almacenan adecuadamente, se elaboran informes y, finalmente, se comunican los hallazgos a las partes interesadas. Esta etapa es crucial para garantizar que los resultados sean comprensibles y útiles para la toma de decisiones.

Capítulo 2. Justificación y Objetivos

En el presente apartado se describe la justificación que da lugar a los objetivos del trabajo de investigación que se centran en generar los primeros antecedentes en Uruguay de evaluación de riesgos por la presencia de arsénico en agua subterránea para consumo humano.

2.1. Justificación

En Uruguay, el 5 % de la población reside en áreas rurales. A excepción de Montevideo, el resto de los departamentos del país cuenta con un porcentaje mayor de personas viviendo en el área rural, entre 8 y 15 % (INE, 2011). Como se mencionó en el capítulo anterior, OSE proporciona agua al 99 % de la población concentrada (OSE, 2022), pero parte de la población rural no recibe suministro estatal y consume agua sin los controles adecuados de potabilidad. Debido a esta forma de consumo y a antecedentes globales, regionales y nacionales sobre niveles de arsénico que superan lo recomendado por la OMS (OMS, 2018), es fundamental evaluar los niveles de arsénico en el agua extraída de pozos privados utilizados como fuente de agua para el consumo por la población rural dispersa. Es importante también obtener datos sobre la concentración de arsénico y sus especies en el agua subterránea, ya que esto no solo proporciona información sobre la química del agua y su toxicidad, debido a los diferentes niveles de toxicidad exhibidos por las distintas especies presentes, sino también sus diferentes respuestas a los métodos de remediación (Litter, Farías, & Armienta, 2009). Para ello, es necesario contar con metodologías que permitan determinar el arsénico y sus especies en matrices acuosas a niveles de trazas.

Tras conocer los niveles de arsénico en el agua, es esencial llevar a cabo una evaluación de riesgo para la salud relacionada con la exposición crónica de la población debido al consumo de este recurso. Es fundamental identificar los riesgos para la salud, y este trabajo tiene como objetivo establecer un vínculo claro entre las fuentes de contaminación, los niveles de

exposición y los posibles efectos en la salud. Este estudio, inédito en Uruguay, proporcionará información valiosa sobre la presencia de arsénico en el agua y su impacto en la salud pública, lo que facilitará el desarrollo de estrategias efectivas de gestión y políticas orientadas a mitigar este riesgo.

Esta Tesis se plantea como desafío analítico desarrollar metodologías que permitan determinar los niveles de arsénico presentes en las aguas subterráneas, así como sus distintas especies, asegurando que sean compatibles con los límites recomendados por la OMS. Asimismo, realizar una evaluación de riesgo a la salud por exposición al contaminante en estudio en la población expuesta ambientalmente con el fin de conocer los primeros datos de la comunidad.

En resumen, las preguntas de investigación plantean: ¿Cuáles son los niveles de arsénico en pozos privados de comunidades rurales dispersas? ¿Existen riesgos para la salud asociado a los niveles de arsénico presentes en el agua subterránea consumida por la población involucrada?

Para ello se describen a continuación los objetivos generales y los específicos juntos a las estrategias para llevarlos a cabo.

2.2. Objetivos generales

- 2.2.1. Desarrollar y validar las metodologías analíticas para la separación y determinación de especies de arsénico en agua subterránea y especies de arsénico toxicológicamente relevantes en orina.
- 2.2.2. Aplicar los métodos desarrollados en aguas subterráneas provenientes de pozos de diferente origen utilizados para el abastecimiento humano para conocer los niveles de arsénico presentes.
- 2.2.3. Evaluar la magnitud de los riesgos potenciales para la salud humana relacionados a la exposición al arsénico a través del agua en zonas estudiadas.
- 2.2.4. Realizar un estudio descriptivo sobre la exposición al arsénico a través del agua subterránea en una población seleccionada.

2.3. Objetivos específicos

- 2.3.1. Aplicar las metodologías desarrolladas y validadas para cuantificar arsénico total, separar y cuantificar especies de arsénico inorgánico en agua, además de cuantificar especies toxicológicamente relevantes en orina en los laboratorios de Facultad de Química.
- 2.3.2. Muestrear agua de pozos particulares y realizar su posterior análisis para determinar arsénico total y conocer la predominancia de especies de arsénico inorgánico con diferente toxicidad en muestras de agua de los mismos.
- 2.3.3. Identificar las zonas rurales donde el agua subterránea utilizada para consumo puedan presentar niveles de arsénico superiores a la normativa internacional ($>10 \mu\text{g L}^{-1}$) (OMS, 2018). Realizar una evaluación de riesgos de salud por exposición a arsénico a través del agua en función de los niveles hallados.
- 2.3.4. Seleccionar una zona con niveles de arsénico no aceptables para realizar un estudio poblacional. Esto implica:
 - 2.3.4.1. Elaborar un plan de muestreo y diseñar una encuesta
 - 2.3.4.2. Muestrear agua y orina
 - 2.3.4.3. Realizar la encuesta (Relevar la información de usos del agua y hábitos alimenticios a través de una encuesta orientada).
 - 2.3.4.4. Georreferenciar.
 - 2.3.4.5. Georreferenciar.
 - 2.3.4.6. Analizar y caracterizar las muestras.
 - 2.3.4.7. Realizar el tratamiento y evaluación de los resultados.
 - 2.3.4.8. Entregar los resultados a la población involucrada.
- 2.3.5. Realizar una evaluación físico-química de las aguas de los pozos muestreados. Medir *in situ* parámetros como pH, potencial de óxido-reducción, conductividad eléctrica, resistividad, salinidad y sólidos disueltos. En el laboratorio determinar cationes y aniones mayoritarios, manganeso y flúor.

Las estrategias planteadas para llevar adelante los objetivos se definen a continuación.

2.4. Estrategias

En primer lugar, se realizaron las etapas de laboratorio para el desarrollo y validación de las metodologías analíticas para la determinación de especies de arsénico en agua y en orina.

Para ello se estudiaron las variables de influencia en la determinación, de forma de optimizar las condiciones experimentales. Luego se procedió a la validación evaluando las principales cifras de mérito que caracterizan un método analítico (linealidad, precisión, rango de trabajo, límites de detección y cuantificación y veracidad). La validación se realizó de acuerdo a la Guía de Validación Eurachem (Magnusson & Örnemark, 2014) para las muestras de agua y a la guía *Standard Practices for Method Validation in Forensic Toxicology* para las muestras de orina (ANSI/ASB, 2019; SWGTOX, 2013).

La determinación de arsénico total en agua se realizó en primera instancia utilizando muestras acidificadas y en una segunda etapa utilizando muestras que no presentaban ningún conservante, mediante HG-FAAS y HG-MP-AES.

Para estas determinaciones se requiere una prerreducción de todo el arsénico presente en la muestra a la especie As(III), lo que se realiza con un tratamiento con NaI en medio ácido. En el caso de las orinas se derivatiza el arsénico toxicológicamente relevante con L-cisteína (Bühl. V, 2015) para la posterior formación de arsina.

Para la determinación de las especies de arsénico inorgánico As(III) y As(V) se acopló una técnica separativa al sistema de detección (HPLC-HG-MP-AES y SPE HG-MP-AES); de esta forma se pudo determinar las especies individuales en la misma muestra. Para la evaluación de la confiabilidad de los resultados obtenidos a partir de los métodos desarrollados, se participó de ensayos interlaboratorios de arsénico en agua y especies toxicológicamente relevantes en orina.

Durante el desarrollo y la validación de las metodologías se evaluaron diferentes muestras de agua subterránea proveniente de Treinta y Tres y Canelones. Luego de tener validadas las metodologías para uso de rutina, se muestrearon y analizaron muestras de varias localidades rurales de nuestro país. Se obtuvieron muestras de localidades como San Pedro, San Antonio,

Kiyú, Punta Espinillo, entre otras. Se determinaron los niveles de arsénico total y, en algunos casos, de las especies en el agua de los pozos particulares de las zonas antes mencionadas. Los resultados obtenidos, nos permitieron identificar zonas donde los niveles de arsénico en agua subterránea utilizada para consumo supera el valor de $10 \mu\text{g L}^{-1}$, valor recomendado por la OMS (OMS, 2022). Dados estos hallazgos, se pudo realizar una evaluación de riesgos a la salud por exposición a arsénico a través del consumo de las aguas subterráneas y se eligieron las localidades de San Pedro y San Antonio. En esta última localidad se realizó un estudio exploratorio donde se evaluó la exposición a través del biomonitoreo del arsénico. A los efectos prácticos, el desarrollo de esta Tesis se organiza en capítulos, donde cada uno sirve como base para el siguiente y se establecen capítulos que representan los estudios específicos. En la Figura 2.1 se puede ver la esquematización de los mismos.

Capítulo 1	• Introducción
Capítulo 2	• Objetivos
Capítulo 3	• Metodologías analíticas
Capítulo 4	• Análisis de muestras de agua de pozo: determinación de arsénico total y sus especies inorgánicas
Capítulo 5	• Resultados de la evaluación de riesgo a la salud por exposición a arsénico a través del consumo de agua
Capítulo 6	• Evaluación de exposición al arsénico a través del consumo de agua de pozos privados. Estudio descriptivo en la zona rural de San Antonio - Canelones
Capítulo 7	• Consideraciones finales

Figura 2.1 Estructura de los capítulos.

Capítulo 3. Metodologías analíticas

En este capítulo, se detallan los insumos, el equipamiento y las metodologías necesarios para el desarrollo y validación de las metodologías para la determinación de arsénico y sus especies inorgánicas en agua, las especies de arsénico toxicológicamente relevantes en orina y el resultado de las validaciones correspondientes al primer objetivo general. Además, se muestra el resultado de la validación de las medidas de cationes mayoritarios en el agua de pozo empleada para estudios puntuales de la Tesis.

3.1. Reactivos, materiales y equipos

En este apartado se describe los reactivos, materiales y equipos utilizados para realizar las diferentes etapas de la investigación. Pueden verse cada uno de estos en las siguientes secciones.

3.1.1. Reactivos y materiales

- * Estándar de As(V), >99,0 % Supelco, Sigma Aldrich. (Merck, Darmstadt - Alemania).
- * Óxido arsenioso (As_2O_3): pureza $\geq 99\%$; Sigma-Aldrich; (Merck, Darmstadt - Alemania).
- * Estándar multielemento para determinación Ca, K, Mg, Mn, 1000 mg L^{-1} ; ICP Multi element standard solution IV (Merck KGaA, Frankfurt – Alemania).
- * Ácido clorhídrico ultratrazas (HCl) 37 % (Merck, Darmstadt - Alemania).
- * Ioduro de sodio (NaI) (Carlo Erba, Val de Reuil - Francia)
- * Hidróxido de sodio (NaOH) (J.T. Baker, Fisher Scientific, MA - EEUU).
- * Tetrahidrobórato de sodio (NaBH_4) 99,2% (Sigma Aldrich, St. Louis, MO - EEUU).
- * Fosfato de amonio ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) 99,5%, (Carlo Erba, Sabadell - España)
- * Soluciones calibradoras: Solución estándar Conductividad ($1413 \mu\text{S cm}^{-1}$, $12,88 \text{ mS cm}^{-1}$); solución estándar pH (4,01, 7,00; 10,01); estándar ORP. (Oakton environmental express, Carolina del Norte – EEUU)

- * Cloruro de sodio (NaCl); 98% (Dorwil, Argentina). Se prepara una solución para calibrar el medidor de salinidad y como estándar para la determinación de sodio.
- * Material de referencia certificado para agua, LATU (Laboratorio Tecnológico del Uruguay). LATU 001 para desarrollo y validación y LATU 002 para control interno durante las corridas análisis de rutina.
- * Muestras para evaluación externa de la calidad en agua, RLAU (Red de Laboratorios Ambientales del Uruguay) también fueron utilizadas durante la validación.
- * Muestras para evaluación externa de la calidad en orina, G-EQUAS (Por sus siglas en inglés, *The German External Quality Assessment Scheme*) (G-EQUAS, 2024).

El material utilizado fue de único uso o se descontaminó previamente con HNO_3 10 % v/v.

El agua ultrapura (ASTM Tipo I, 18,2 MΩcm de resistividad) fue obtenida de un sistema de purificación de agua Millipore™ DirectQ3 UV (Milli-Q®, Millipore, Bedford, MA, EUA).

Para las determinaciones que involucraban cuantificación de arsénico, se preparó la disolución stock estándar de As(III) 1000 mg L⁻¹ disolviendo una cantidad apropiada de As₂O₃ en 3 mL de hidróxido sódico 2 mol L⁻¹ y se diluyó con agua ultrapura hasta un volumen de 10 mL. Esta disolución se preparaba mensualmente y se mantenía refrigerada a 18 °C. Las soluciones de As(V) se preparaban cada día de trabajo a partir de las soluciones estándares.

Las disoluciones acuosas de L-cisteína (> 97%, Sigma - Aldrich) al 2 % m/v en HCl al 0,24 mol L⁻¹ se prepararon de manera diaria.

El NaBH₄ (99%, Sigma – Aldrich) se preparó al 2 % m/v en solución de hidróxido de sodio al 0,5 % m/v antes de su uso.

En el caso de los análisis de los cationes mayoritarios se preparó la solución stock de estándar multielemento de 100 mg L⁻¹ y, a partir de allí se prepararon soluciones estándares intermedias de acuerdo a las concentraciones de las curvas de calibración de potasio, magnesio, calcio y manganeso.

Se utilizó NaCl previamente secado para preparar el calibrador para salinidad (3000 mg L^{-1}) y la solución patrón de 1000 mg L^{-1} para la determinación de sodio en agua.

3.1.2. Equipos

3.1.2.1. Espectrómetro de absorción atómica Varian Spectra AA 55B con módulo comercial para la inyección en flujo para generación de hidruros Varian VGA77 (Figura 3.1).



Figura 3.1 Espectrómetro de absorción atómica acoplado al generador de hidruros.

3.1.2.2. Espectrómetro de emisión atómica con plasma inducido por microondas (MP-AES), modelo 4210 Agilent Technologies (Figura 3.2). Para la generación del plasma cuenta con una antorcha estándar y un generador de nitrógeno en línea modelo 4107 que toma aire del ambiente por medio de un compresor modelo KK70 TA-200K. El MP-AES está equipado con un muestreador automático modelo SPS 4 Agilent Technologies (Figura 3.2), el cual solo se utilizó para la determinación de potasio, magnesio, calcio y manganeso.

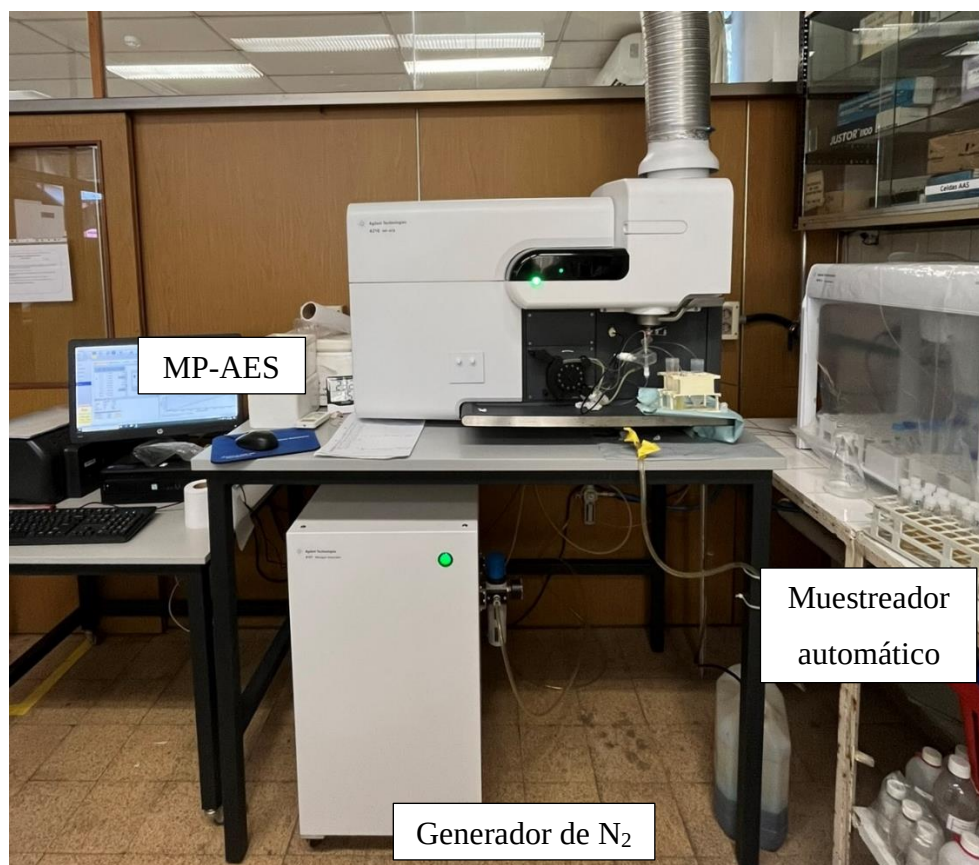


Figura 3.2 Espectrómetro de emisión atómica con plasma inducido por microondas con cámara multimodo que permite la generación de especies volátiles - Agilent 4210. A la derecha de la figura se observa el muestreador automático utilizado solamente para la determinación de Ca, K, Mg y Mn

3.1.2.3. Cromatógrafo líquido de alta performance Shimadzu (Figura 3.3). El mismo cuenta con varios módulos independientes interconectados: bomba (Modelo LC –20AT), degaseador (Modelo DGU – 20A 5), Autosampler (SIL – 20A HT), horno de Columna (CTO – 10AS VP).



Figura 3.3 Cromatógrafo líquido Shimadzu.

Este cromatógrafo no está equipado con un detector, ya que fue adquirido para el desarrollo de metodologías acopladas. En este caso, se acopló al HG-MP-AES para la determinación de las especies inorgánicas de arsénico presentes en las muestras de agua subterráneas.

3.1.2.4. Bomba de vacío *Neuberger KNF Laboport* de dos etapas con un caudal de 10 L min^{-1} y un vacío de $29,7 \text{ inHg}$ con cámara de vacío *Visiprep™ SPE*.



Figura 3.4 Cámara de vacío Visiprep™ SPE conectada a una bomba de vacío Neuberger KNF Laboport

Se utilizaron cartuchos aniónicos Strata® SAX ($55 \mu\text{m}$, $70 \text{ \AA}$), 500 mg de 6 mL de relleno a base de sílice. Estos cartuchos contienen un sorbente con un grupo amina cuaternaria, que luego de ser activado permanece cargado positivamente, proporcionando un fuerte mecanismo de retención de intercambio aniónico.

3.1.2.5. Fotómetro de llama *Sherwood* modelo 360 para determinación de sodio. El mismo cuenta con un Fotodetector término genérico.



Figura 3.5 Fotómetro de llama Sherwood modelo 360.

Se utilizaron otros equipos menores como:

- 3.1.2.6. Centrífuga Sigma Modelo 2-4, Alemania.
- 3.1.2.7. Estufa DAIHAN *Scientific*.
- 3.1.2.8. pH metro de mesada Thermo Scientific, Orion VersaStart Pro.
- 3.1.2.9. Medidor portátil para pH, conductividad, resistividad, salinidad, potencial redox, y sólidos disueltos. Oakton *ENVIRONMENTAL EXPRESS* PC 260 (EEUU).

3.2. Metodologías analíticas

Como se mencionó anteriormente, a lo largo de la Tesis se optimizaron y validaron diferentes metodologías que resultaron herramientas indispensables al momento de conocer los niveles de arsénico en agua y de evaluar la exposición al arsénico inorgánico.

Las metodologías utilizadas para las diferentes determinaciones analíticas realizadas durante el desarrollo de la investigación se describen a continuación. Estas metodologías incluyen:

Para agua:

- Determinación de los niveles de arsénico total mediante HG-FAAS y HG-MP-AES.
- Identificación y cuantificación de las especies de arsénico inorgánico, As(III) y As(V) mediante HPLC-HG-MP-AES y SPE HG-MP-AES.
- Determinación de potasio, magnesio, calcio y manganeso mediante MP-AES.
- Determinación de sodio mediante fotómetro de llama.

Para orina:

- Análisis de las especies toxicológicamente relevantes de arsénico.

En algún caso se trabajó con dos metodologías diferentes para la misma determinación, y se presenta la comparación de ambas, lo que permitió seleccionar la metodología más adecuada para la aplicación específica para la cual fue utilizada.

Para demostrar si las características de desempeño de cada metodología desarrollada son adecuadas para el uso propuesto, se llevó a cabo la validación siguiendo las pautas establecidas en la Guía Eurachem “La adecuación al uso de los métodos analíticos”, publicada en 2014 (Magnusson & Örnemark, 2014).

Las características de desempeño evaluadas fueron precisión (repetibilidad y precisión intermedia), veracidad (recuperación), límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) y rango de trabajo. La forma de evaluar cada uno de estos parámetros está definida en la guía antes mencionada. Durante el desarrollo y la validación se utilizaron muestras certificadas de agua suministradas por el LATU para las determinaciones en agua, mientras que, para las determinaciones en orina, se utilizaron muestras del programa G-EQUAS.

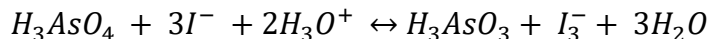
Dado que hay varias metodologías puestas a punto y validadas, a modo de agilizar la lectura en este capítulo se describen los métodos junto con los resultados obtenidos.

3.2.1. Metodologías de determinación de arsénico total en agua¹

Existen varias formas para realizar la determinación de arsénico total, siendo las técnicas espectrométricas las más utilizadas. Es importante destacar que, si estas técnicas permiten el sistema de introducción de muestras con HG, la sensibilidad se ve aumentada entre 10 y 100 veces con respecto a una determinación convencional (Yu *et al.*, 2020). Esto se debe a que el arsénico forma hidruros covalentes volátiles por reacción con el tetrahidrobórato de sodio en solución ácida, y su generación como gas arsina, permite que sean transferidos al sitio donde será atomizado.

Para la generación del compuesto volátil, se realiza una prerreducción a As(III) y la posterior liberación del compuesto volátil de la disolución de la muestra finalizando con la transferencia a la fase gaseosa; el transporte del compuesto liberado se realiza mediante un flujo de gas portador hacia un atomizador/detector. En nuestro caso el prerreductor utilizado es el KI y la reacción con el arsénico presente en el agua se describe en la *Ecuación 1*.

Ecuación 1

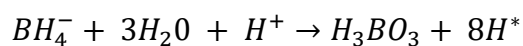


Existe controversia en el mecanismo de acción de la arsina; algunos autores proponen su formación a partir del hidrógeno naciente y otros hablan de reacciones de sustitución. En este caso hay mecanismos de formación de especies intermedias bastante complejos hasta llegar a la formación del hidruro.

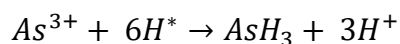
El mecanismo que propone Dědina & Tsalev (1995) se explica en la *Ecuación 2* y la *Ecuación 3*.

¹ El desarrollo y la validación de dichas metodologías se enmarcaron en el proyecto de Iniciación a la investigación de CSIC. CSIC-INI 2017 - 177

Ecuación 2



Ecuación 3



El mecanismo propuesto ocurre en medio ácido; el tetrahidroborato reacciona en medio ácido y se genera hidrógeno. Dicho hidrógeno reacciona con el arsénico para formar el hidruro volátil, en este caso arsina. Posteriormente el transporte de la arsina se realiza mediante un flujo de gas portador hacia un atomizador/detector.

En este trabajo, las técnicas utilizadas son HG-FAAS y HG-MP-AES; en el caso de la espectrometría de absorción atómica, los hidruros generados se transfieren a una celda de cuarzo, donde se produce la disociación y atomización de los mismos, mientras que en la emisión atómica el aerosol se introduce en el centro del plasma caliente, donde se seca, se descompone y luego se atomiza.

3.2.1.1. Determinación de arsénico mediante HG-FAAS ²

Para iniciar esta subsección se presentan inicialmente en la Tabla 3.1 las condiciones instrumentales del equipo utilizado.

² Trabajo presentado en formato poster en el 5º Congreso Uruguayo de Química Analítica. 2018

Tabla 3.1 Condiciones instrumentales del HG-FAAS

HG-FAAS

- Lámpara de Cátodo hueco de As, λ : 193,7 nm
 - Ancho de rendija: 0,5 nm
 - Gas portador: N₂
 - Corrección de Fondo: Lámpara de Deuterio
 - Combustible: Llama Aire-acetileno
-

La determinación de arsénico total en agua de consumo se realizó mediante HG-FAAS, tomando como referencia el método APHA 3114 *Arsenic and selenium by hydride generation atomic absorption spectrometry* (Rice *et al.*, 2012). Esta metodología es adecuada para la determinación conjunta de las especies inorgánicas mayoritarias que se encuentran en aguas subterráneas que son arsenito (As(III)) y arseniato (As(V)).

Como se mencionó anteriormente, la determinación mediante HG-FAAS requiere un pretratamiento inicial de muestra, una prerreducción, de forma de que todo el arsénico inorgánico presente se reduzca a As(III). El equipo utilizado, Varian (Agilent Technologies, 2016) cuenta con un sistema comercial en flujo acoplado por el cual se introduce la muestra al sistema de detección. En este sistema en flujo se produce una nueva reducción, en este caso de la especie de As(III) al hidruro volátil correspondiente, arsina, con el agente reductor tetrahidrobórato de sodio (Figura 3.6).

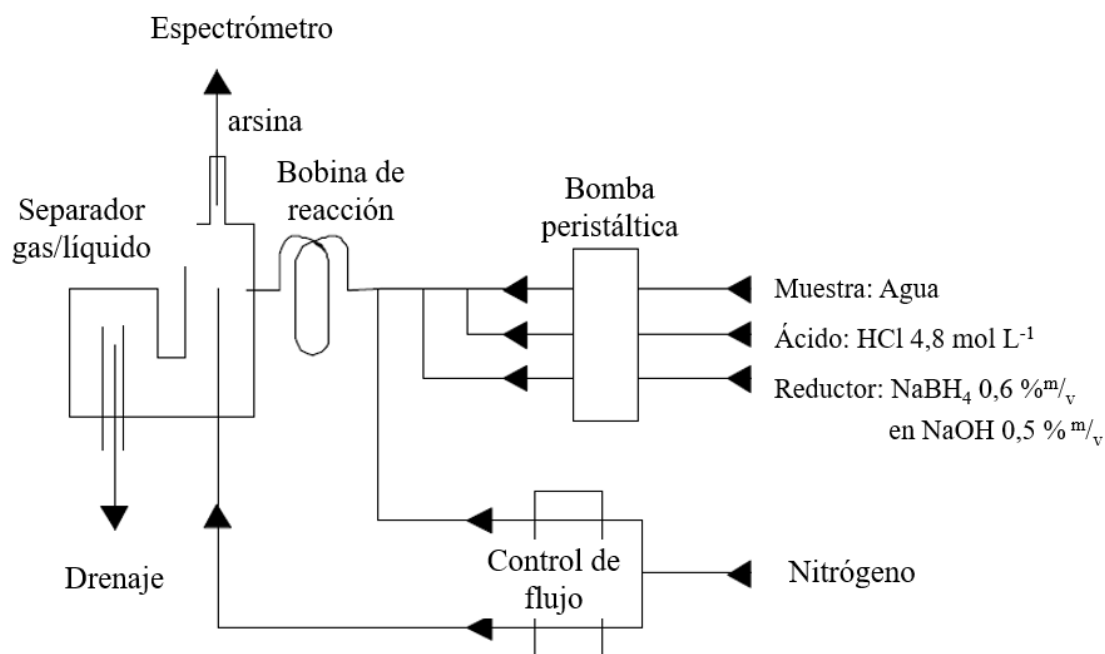


Figura 3.6 Esquema del accesorio VGA 77. Adaptado de Guía de uso VGA 77– © Agilent Technologies, Inc., (Agilent Technologies, 2016)

Dadas las diferentes variables que se dan en el proceso de generación de hidruros, para que éste sea cuantitativo, es necesario optimizar la concentración del prerreductor, el pH del medio y la concentración de tetrahidrobórato de sodio.

La metodología APHA 3114 (Rice *et al.*, 2012) plantea una prerreducción con KI 20 % m/v y con HCl 12 mol L^{-1} y la generación de hidruros con HCl 4,8 mol L^{-1} y NaBH₄ 0,6 % m/v en NaOH 0,5 % m/v . Con el objetivo de disminuir el consumo de reactivos, la metodología fue optimizada realizando previamente un diseño experimental multivariado central compuesto para la prerreducción. El mismo se estudió para dos variables (concentración de KI y de HCl) en tres niveles y permitió optimizar el pretratamiento que requieren las muestras de agua subterráneas o superficiales. Las variables estudiadas fueron las concentraciones de los reactivos para el pretratamiento en batch: HCl (12, 6 y 3 mol L^{-1}) y KI (5, 10 y 20 % m/v). Para cada experimento, utilizando las dos variables con una combinación diferente de los niveles, se tomó como respuesta la pendiente de la curva de calibración (sensibilidad del método en un rango lineal de hasta 10,0 $\mu g L^{-1}$) y el porcentaje

de recuperación obtenido a partir de muestras fortificadas a dos niveles de concentración (3,0 y 6,0 $\mu\text{g L}^{-1}$).

Para la cuantificación de arsénico total se realizaron curvas de calibración a partir de un estándar comercial de As(V) y se prepararon cuatro patrones de calibración de concentraciones: 3,0; 6,0; 9,0; y 12,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. Cada uno de los patrones de calibración fue tratado de igual manera que las muestras y blancos.

Los resultados obtenidos a partir del diseño experimental se muestran en la Tabla 3.2.

Tabla 3.2 Diseño multivariado de tipo central compuesto de 2 variables a 3 niveles

Experimento	Conc. HCl (mol L⁻¹)	Conc. KI (% m/v)	Pendiente de la curva de Calibración (UA/ ($\mu\text{g L}^{-1}$))
1	12	20	0,0143
2	12	5	0,0143
3	6	10	0,0164
4	3	20	0,0181
5	3	10	0,0170

A partir de las pendientes obtenidas se genera una superficie de respuesta como se muestra en la Figura 3.7, donde se puede observar que los resultados son ser satisfactorios (mayor pendiente) utilizando HCl 6 mol L⁻¹ y KI 10 % m/m).

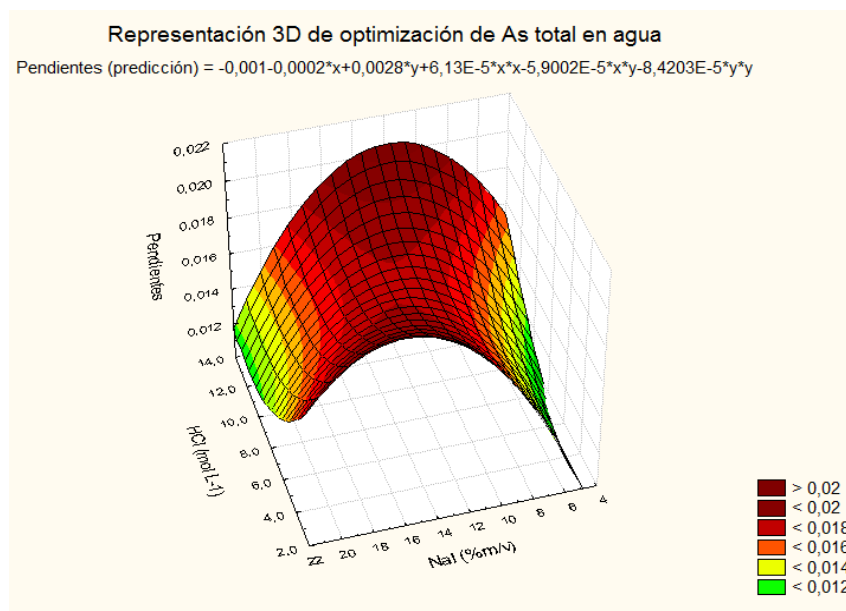


Figura 3.7 Superficie de respuesta 3D para el diseño experimental realizado

Como resultado de la optimización del pretratamiento, las concentraciones de los reactivos necesarios se redujeron a la mitad.

La **metodología** optimizada se esquematiza brevemente en la Figura 3.8.

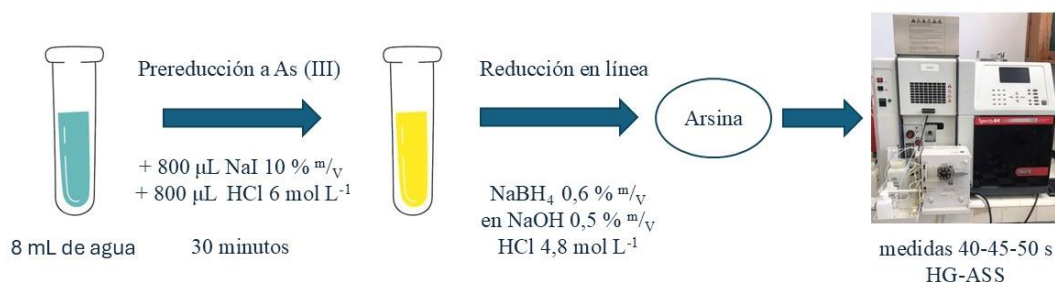


Figura 3.8 Protocolo de análisis para determinación de arsénico total en agua mediante HG-FAAS

Para demostrar si las características de desempeño de la metodología desarrollada son adecuadas para el uso propuesto, se realizó la validación basada en la Guía Eurachem (Morilla & colaboradores, 2016). Las características de desempeño evaluadas fueron precisión (repetibilidad), veracidad (recuperación), LOD, LOQ y rango de trabajo. Durante

el desarrollo y la validación se utilizaron muestras certificadas de agua suministradas por el LATU.

A continuación, se muestran las cifras de mérito obtenidas al validar la metodología con los parámetros optimizados. Para cada cifra de mérito se define un criterio de aceptación según las necesidades de nuestro análisis.

Las cifras de mérito obtenidas durante la validación fueron adecuadas para su uso en relación con los criterios asignados para nuestro propósito (Tabla 3.3). Los criterios de aceptación para esta metodología se basaron en la capacidad de detectar y cuantificar arsénico en agua teniendo en cuenta los niveles que sugiere la OMS de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ (OMS, 2022).

Tabla 3.3 Cifras de mérito para la determinación de arsénico total (HG-FAAS)

Cifras de mérito	Criterio de aceptación	Resultado
Linealidad (R^2)	$>0,990$	$>0,995$
LOD ^(a) ($\mu\text{g L}^{-1}$) n=6	$< 1,0$	0,5
LOQ ^(b) ($\mu\text{g L}^{-1}$) n=6	$< 2,0$	1,5
Rango de trabajo ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1,5 - 20	1,5 - 12
Repetibilidad (RSD, %) n=10	< 10	$<5,0$
Precisión Intermedia (RSD, %) n=10	< 10	$<5,0$
Veracidad (muestras fortificadas a dos niveles, %) n=10	75-125	93-108

^(a) Calculado según Guía Eurachem, $\text{LOD} = 3*s$ (s: desviación estándar de los blancos).

^(b) Calculado según Guía Eurachem, $\text{LOQ} = 10*s$ (s: desviación estándar de los blancos).

En el caso del rango de trabajo, no se cumplió con el criterio establecido ya que a partir de $12 \mu\text{g L}^{-1}$ comienza a perderse el rango lineal. Para poder cuantificar muestras que superen el valor de $12 \mu\text{g L}^{-1}$ se procede a la dilución de las mismas. En nuestro caso durante el desarrollo se utilizó el material de referencia certificado del LATU (LATU 001) que tenía

un valor declarado de arsénico de $22,2 \mu\text{g L}^{-1}$ y el mismo se analizó 10 veces con una dilución al cuarto. Los porcentajes de recuperación estuvieron entre 76 % y 124 % con un promedio entre todas las determinaciones de 97 %.

3.2.1.2. Determinación de arsénico mediante HG-MP-AES

La determinación de arsénico mediante HG-MP-AES requiere también un pretratamiento inicial de muestra de forma de que todo el arsénico presente se reduzca a As(III). El equipo utilizado cuenta con una antorcha estándar y una cámara de nebulización multimodo (MSIS) que permite la generación de hidruros, como se muestra en la Figura 3.9.

A través de la bomba peristáltica se introduce la muestra con HCl y el agente reductor que van a la cámara multimodo. Allí se produce el hidruro volátil, que es arrastrado por el gas portador (N_2 , Caudal; $0,55 \text{ L min}^{-1}$) hasta el plasma de nitrógeno. En el plasma generado por microondas, el gas arsina es descompuesto, liberando átomos de arsénico. Estos átomos son excitados por la energía térmica del plasma y, cuando regresan a su estado fundamental, emiten radiación (se selecciona $\lambda=193.7 \text{ nm}$). La emisión de luz característica del arsénico es detectada por el espectrómetro, que mide la intensidad de la radiación emitida y es procesada por el software del equipo.

En este caso, la velocidad de la bomba para introducir las muestras y el agente reductor es de 30 rpm.

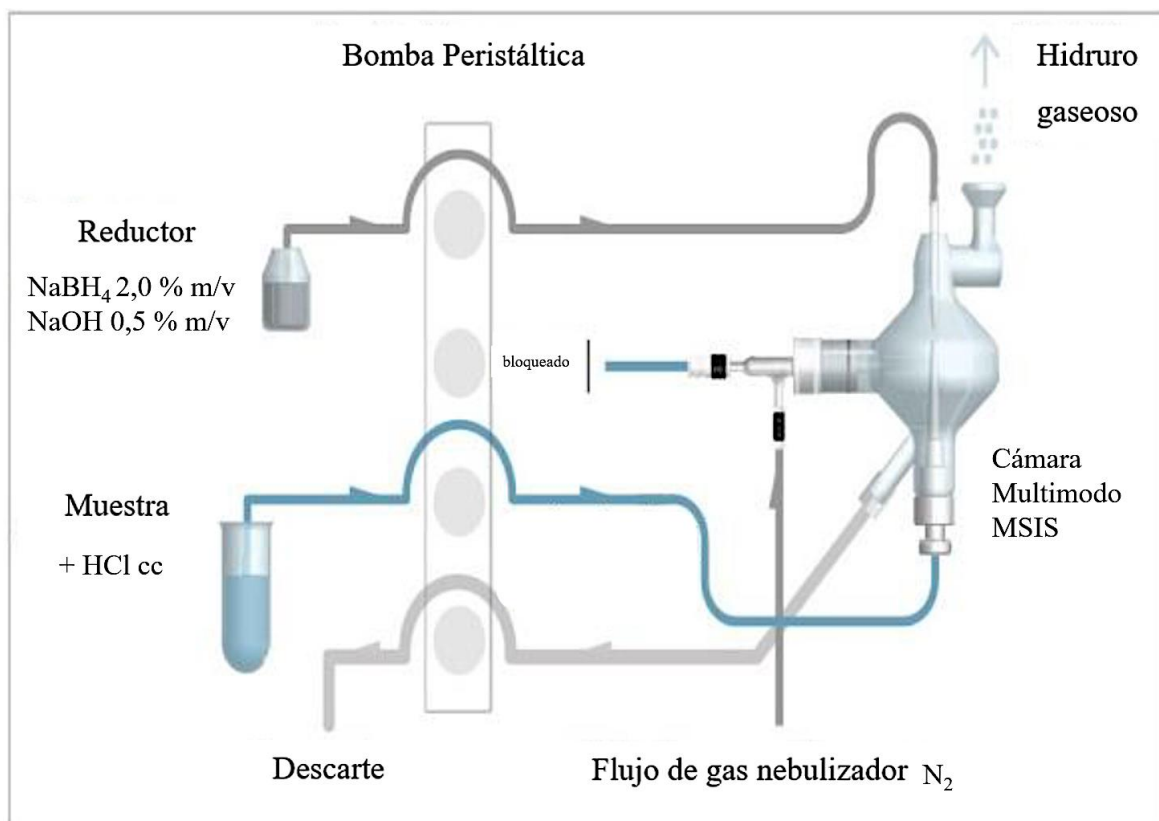


Figura 3.9 Sistema en flujo de introducción de la muestra mediante generación de hidruros. Adaptado de Nota de aplicación MSIS – © Agilent Technologies, Inc., (Amorin, 2016)

Se optimizó y validó un método para la determinación de arsénico total en agua adaptado del método de normalizado APHA 3114 (Rice *et al.*, 2012). En este desarrollo se disminuyó la cantidad de muestra y utilización de reactivos respecto al método oficial (HG-FAAS), y se mantuvo la misma proporción entre los reactivos obtenida como resultado en el diseño experimental para HG-FAAS. Este método utiliza HCl y NaI para la etapa de prerreducción. Posteriormente la muestra se mezcla en línea con el agente reductor del sistema (NaBH_4 de 2%^{m/v} en NaOH 0,5%^{m/v}) para formar la arsina y determinar el contenido de arsénico total previamente reducido a As(III). El protocolo se describe en la Figura 3.10.

Antes de las mediciones, la posición de visualización y el flujo del nebulizador fueron optimizados con una solución de As(V) de concentración de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ tratada igual que las muestras. La optimización fue realizada por el software del instrumento. Para la cuantificación se realizan curvas de calibración a partir de un estándar comercial de As(V) y se preparan cada uno de los patrones de calibración de igual manera que las muestras y los

blancos. Los puntos de la curva son 0,0; 5,0; 10,0; 25,0; 50,0; 75,0; 100,0 y 150,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. Las medidas se realizan por triplicado a una longitud de onda de 193,7 nm luego de 10 s de estabilización.

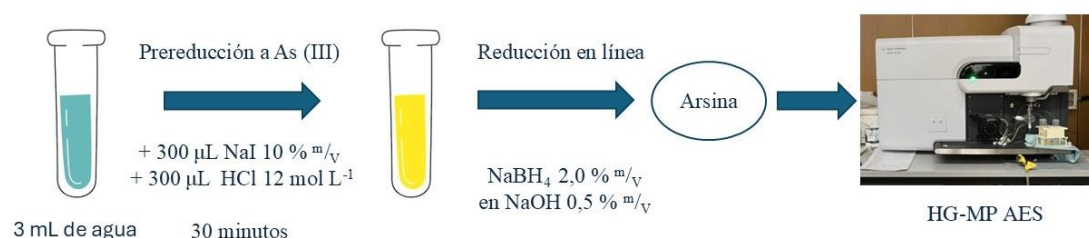


Figura 3.10 Protocolo de análisis para determinación de arsénico total en agua mediante HG-MP-AES

Se realizó la validación de la metodología siguiendo los mismos criterios planteados para el desarrollo mediante HG-FAAS, teniendo como referencia, para evaluar la metodología, el valor máximo recomendado por la OMS, obteniendo cifras de mérito adecuadas para nuestro propósito, las cuales se detallan en la Tabla 3.4.

Tabla 3.4 Cifras de mérito para la determinación de arsénico total (HG-MP-AES)

Cifras de mérito	Criterio de aceptación	Resultado
Linealidad (R^2)	$> 0,990$	$> 0,996$
LOD ^(a) ($\mu\text{g L}^{-1}$) $n = 10$	$< 1,0$	0,8
LOQ ^(b) ($\mu\text{g L}^{-1}$) $n = 10$	$< 3,0$	2,5
Rango de trabajo ($\mu\text{g L}^{-1}$)	2,5 - 250	2,5 - 250
Repetibilidad (RSD, %) $n=10$	< 10	$< 5,0$
Veracidad (muestras fortificadas a dos niveles, %) $n=10$	75-125	95-110

^(a) Calculado según Guía Eurachem, $\text{LOD} = 3*s$ (s: desviación estándar de los blancos).

^(b) Calculado según Guía Eurachem, $\text{LOQ} = 10*s$ (s: desviación estándar de los blancos).

Estos resultados se consideraron adecuados al uso para los criterios planteados y permiten utilizar esta metodología para conocer los niveles de arsénico en las aguas subterráneas de nuestro país.

Se estudió la estabilidad del arsénico en las muestras de agua siguiendo las pautas de la Guía “*Standard Practices for Method Validation*” (ANSI/ASB, 2019). La misma implica la resistencia del arsénico al cambio químico que se puede dar en la muestra de agua almacenada en heladera entre 2 a 8 °C durante 15 días. Para ello se fortificó una muestra de agua subterránea que contiene niveles no detectables de arsénico, por triplicado, en dos niveles de 40 y 60 µg L⁻¹. Las muestras fueron evaluadas al momento de ser fortificadas (día 0), una segunda vez a los siete días y una tercera vez a los 15 días.

Los resultados obtenidos se describen en la Tabla 3.5, donde se observa el promedio de los resultados para cada día. Dado que los coeficientes de variación en todos los casos fueron menores a los obtenidos de la validación y la veracidad sigue estando en torno al 100 % se puede decir que el valor de arsénico en la muestra de agua subterránea permanece estable en un período de 15 días, tiempo en el cual deberá ser ejecutado el análisis. No se evaluó la estabilidad en un período de tiempo mayor ya que se consideró adecuado un plazo de 15 días posteriores al muestreo, para la determinación analítica de arsénico en este tipo de muestras.

Tabla 3.5 Resultado del estudio de estabilidad de las muestras de agua para la determinación de arsénico total.

Conc. Estudiada (µg L⁻¹)	Concentración (µg L⁻¹) ± RSD (%) / %recuperación (%)		
	Dia 0	Dia 7	Dia 15
40	42,6 ± 0,3/106,6	42,7 ± 0,1/106,8	41,0 ± 0,3/102,4
60	63,3 ± 0,2/105,5	64,9 ± 0,9/108,2	62,1 ± 0,9/103,5

Luego de la validación se estudiaron 4 muestras de agua de pozos de zonas rurales de Canelones. En este caso las muestras se tomaron sin acidificar, ya que se iba a realizar también la especiación analítica. El protocolo de toma de muestra se describe en el Apéndice 1. Los resultados de la concentración de arsénico total de las muestras se describen en la Tabla 3.6.

Tabla 3.6 Resultados de arsénico total determinados mediante HG-MP-AES

Muestra	[As]($\mu\text{g L}^{-1}$)
1	$18,0 \pm 0,9$
2	$16,9 \pm 0,8$
3	$7,9 \pm 0,4$
4	$15,0 \pm 0,8$

De las muestras estudiadas, solamente una presentó un valor que se acepta según OMS (2022), mientras que todas son aceptables según el VMP que define la norma UNIT 833:2008 (UNIT 833:2008, 2010).

A modo de discusión se retoman algunos resultados de las metodologías desarrolladas para la determinación de la concentración de arsénico total en agua y se describen en la siguiente subsección.

3.2.1.3. Comparación de las dos metodologías para determinación de arsénico total en agua

Si se comparan las cifras de mérito de ambos métodos (ver Tabla 3.7) podemos observar que los valores de precisión y veracidad son semejantes. Cuando se estudiaron los límites de detección, ambos se adaptaron a nuestras necesidades para poder distinguir si la concentración de arsénico en las aguas está por debajo de las recomendaciones internacionales, pero el método por HG-FAAS mostró ser mejor. Sin embargo, este método presenta un rango lineal pequeño, lo que implica tener que diluir las muestras con las cuales se trabaja. Esto es una desventaja analítica ya que implica un paso adicional y puede llevar

a cometer más errores al momento del análisis. En el caso del método HG-MP-AES tenemos un rango de trabajo que permite cuantificar las muestras sin necesidad de diluirlas. Además, en esta metodología el volumen de muestra utilizado es menor que para HG-FAAS.

Por último, pero no menos importante, el MP-AES es un equipamiento que funciona con nitrógeno, que extrae del aire, por lo que no requiere gases inflamables, ni la utilización de cilindros contenedores, lo que lo hace más económico y seguro para los usuarios.

Por todo esto, la metodología utilizada para la determinación de arsénico en las muestras de agua que se tomaron a lo largo de esta Tesis fue HG-MP-AES.

Tabla 3.7 Tabla comparativa entre HG-FAAS y HG-MP-AES

	HG-FAAS	HG-MP-AES
Rango de trabajo ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1,5 - 12,0	2,5 - 250
LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,5	0,8
LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1,5	2,5
Precisión intermedia (%)	< 5,0	< 8,0
Veracidad (%)	93-108	95-110
Volumen mínimo de muestra (mL)	8	3
Gas utilizado para atomización	Acetileno/aire para la llama	nitrógeno para el plasma

3.2.2. Metodologías para la determinación de especies de arsénico inorgánico en agua³

La especiación analítica es la separación, identificación y/o determinación de las concentraciones de una o más especies o formas individuales de un elemento químico, que constituyen la concentración total del mismo en esa matriz (Templeton *et al*, 2000).

En el análisis de especiación de arsénico se busca determinar las diferentes formas en las que este elemento se encuentra en una muestra. Como estrategia analítica, las técnicas espectrométricas pueden acoplarse con técnicas cromatográficas. De esta forma, se logra la separación previa de las especies teniendo en cuenta la diferencia de pKa de las mismas y por lo tanto su diferente grado de ionización a determinado pH (RSA-CONICET, 2018).

Como es sabido, el arsénico inorgánico en agua subterránea se puede encontrar mayoritariamente en los estados de oxidación III y V y además, el estado de oxidación y la movilidad dependen del pH y del potencial redox. Principalmente el arsénico inorgánico forma oxoaniones derivados del ácido arsenioso, H_3AsO_3 , y el ácido arsénico, H_3AsO_4 (Figura 3.11). El pH del agua subterránea suele estar entre 6,5 y 8,5, por lo que, observando el diagrama de *Pourbaix* en la Figura 3.12, se puede ver que, en el rango de pH habitual de las aguas subterráneas, el ácido arsénico o arseniato de hidrógeno puede estar con una o dos cargas negativas (mono y dihidrógeno arseniato) y el ácido arsenioso se encuentra como tal dependiendo del potencial de las aguas.

³ Trabajo en el marco de la beca de Maestría de ANII. ANII - POS_NAC_2019_1_158255

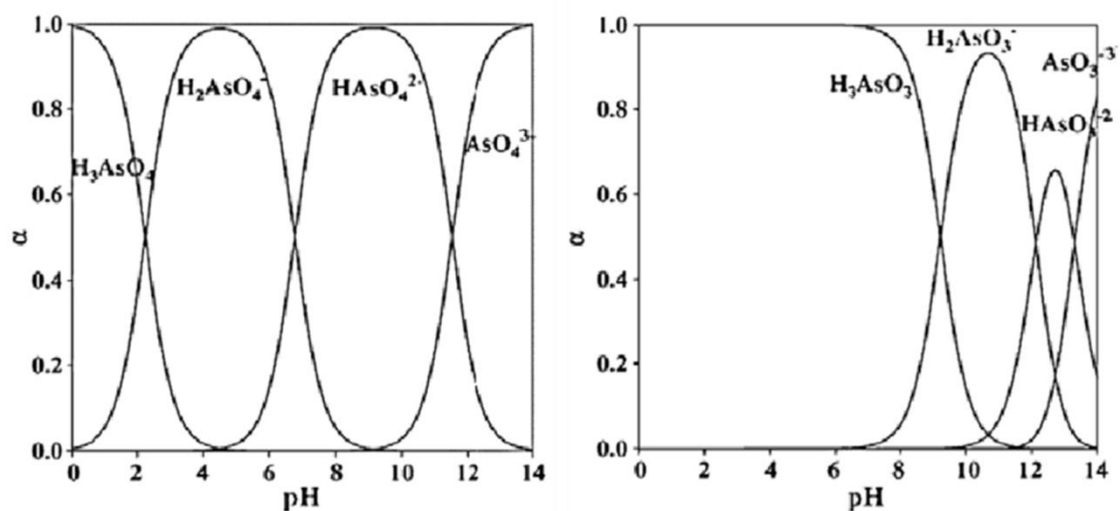


Figura 3.11 Diagramas de especies de As V y As III en función del pH. Extraído de Lu & Zhu, 2011

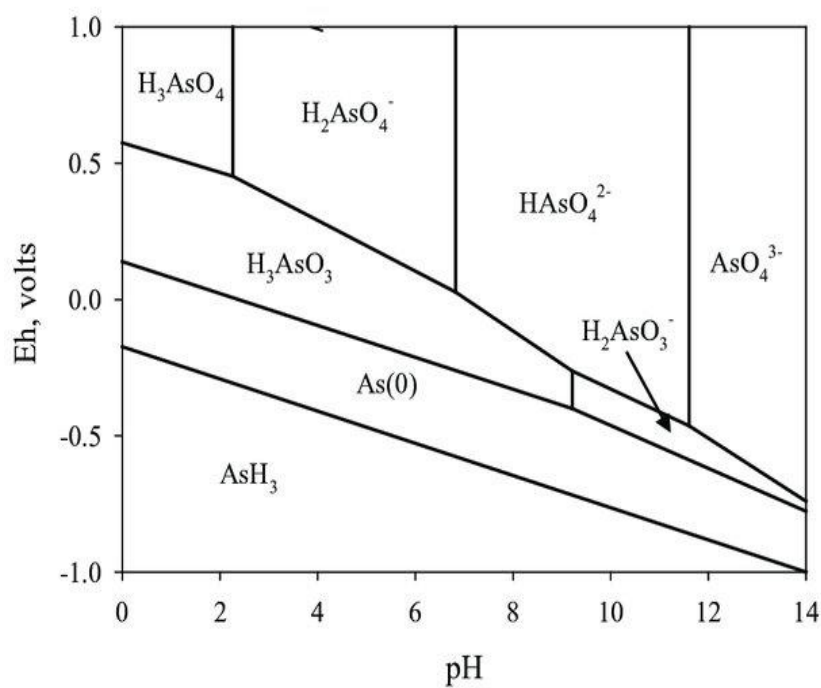


Figura 3.12 Diagrama Eh-pH de especies acuosas de arsénico a 25°C y 1 bar de presión.

Adaptado de (Lillo, 2008)

Existen numerosas metodologías reportadas para la especiación de arsénico que se basan en esta diferencia de cargas para lograr la separación de ambas especies, las cuales utilizan la cromatografía y, la extracción en fase sólida, entre otras técnicas separativas. Algunas de ellas emplean un pH fijado con un buffer adecuado, como en el caso de HPLC con columna de intercambio aniónico, donde frecuentemente se utiliza un buffer de fosfato a pH 5,6-5,8 para optimizar la separación de las especies de arsénico (Machado, Bühl & Mañay, 2019; Sigrist, 2009). Otras metodologías reportadas trabajan al pH natural de las muestras de aguas subterráneas, y separan al As(III) del As(V) *in situ* mediante cartuchos o resinas de intercambio iónico que se llevan al lugar del muestreo, eliminando así el riesgo de interconversión entre especies (He *et al.*, 2023).

Con algunas técnicas analíticas acopladas es posible separar y determinar todas las especies de arsénico, como es el caso del HPLC-ICP-MS. Sin embargo, hay situaciones en las que una especie de arsénico no se puede determinar directamente o es difícil de lograr límites de cuantificación apropiados para concentraciones muy bajas. En esos casos, se puede recurrir al cálculo para determinar la concentración de la especie de interés. Este enfoque hace uso del balance de masa ya que la concentración total de un elemento en una muestra dada es igual a la suma de las concentraciones de cada una de las especies de ese mismo elemento (Templeton *et al*, 2000). Entonces, determinando la concentración de arsénico total y la concentración de As(V) o As(III), es posible determinar la concentración de la otra especie calculando la diferencia entre la concentración total y la de la especie determinada analíticamente. Por ejemplo, Sounderajan, Udas & Venkataramani (2007) y Khaligh *et al.* (2015), determinan la concentración de As(III) por cálculo, restando a la concentración total de arsénico (AsT) la concentración de As(V): $AsT - As(V) = As(III)$. En otros casos, como Khansili (2023) y Sigrist (2009), se desarrolla una metodología para determinar arsenito, por lo que la especie que se determina mediante cálculo en este caso es As(V), de esta forma: $AsT - As(III) = As(V)$.

En las subsecciones siguientes se discuten las dos técnicas acopladas que se utilizaron para poder lograr la especiación analítica del arsénico inorgánico en agua.

3.2.2.1. Determinación de especies de arsénico inorgánico en agua mediante sistemas acoplados (HPLC-HG-MP-AES)

A los efectos de separar y cuantificar las especies inorgánicas se utilizó un inyector y una bomba de HPLC acoplado a la técnica ya trabajada de HG-MP-AES. Mediante HPLC se logra la separación de las especies, las cuales posteriormente se cuantifican mediante HG-MP-AES.

Las condiciones instrumentales del HPLC se detallan en el Tabla 3.8.

Tabla 3.8 Condiciones instrumentales del HPLC

<i>HPLC</i>
- Columna de intercambio aniónico, Hamilton PRP-X100 - PSDVB/Trimetilamonio
* dimensiones: 250 x 4,6 mm
* tamaño de partícula: 10 μm
- Fase móvil: buffer fosfato pH: 5,8
- Flujo: 1,5 mL min ⁻¹
- Volumen de inyección: 500 μL

Para poder acoplar ambos sistemas se utilizó un conector de 3 vías (Figura 3.13). En una de las entradas se conecta la salida del HPLC por donde eluye la muestra luego de atravesar la columna cromatográfica. En la otra entrada se conecta el tubo con HCl que pasa primero por la bomba peristáltica de MP-AES. La tercera entrada va a la cámara multimodo donde llega también el NaBH₄ que permite la formación de la arsina. Todo el sistema acoplado se observa en la Figura 3.14.

Para la separación cromatográfica, se utilizó una columna de intercambio aniónico con una fase móvil de fosfato de amonio 29 mmol L⁻¹ de pH 5,8 (Lindberg *et al.*, 2007; Marschner, Musil, & Dedina, 2016; Machado, Bühl, & Mañay, 2019) acoplada a HG-MP-AES como sistema de detección, en las mismas condiciones antes optimizadas para la metodología de

determinación de arsénico total. Con este sistema se logró identificar y cuantificar las especies inorgánicas de arsénico III y V en disoluciones estándar.

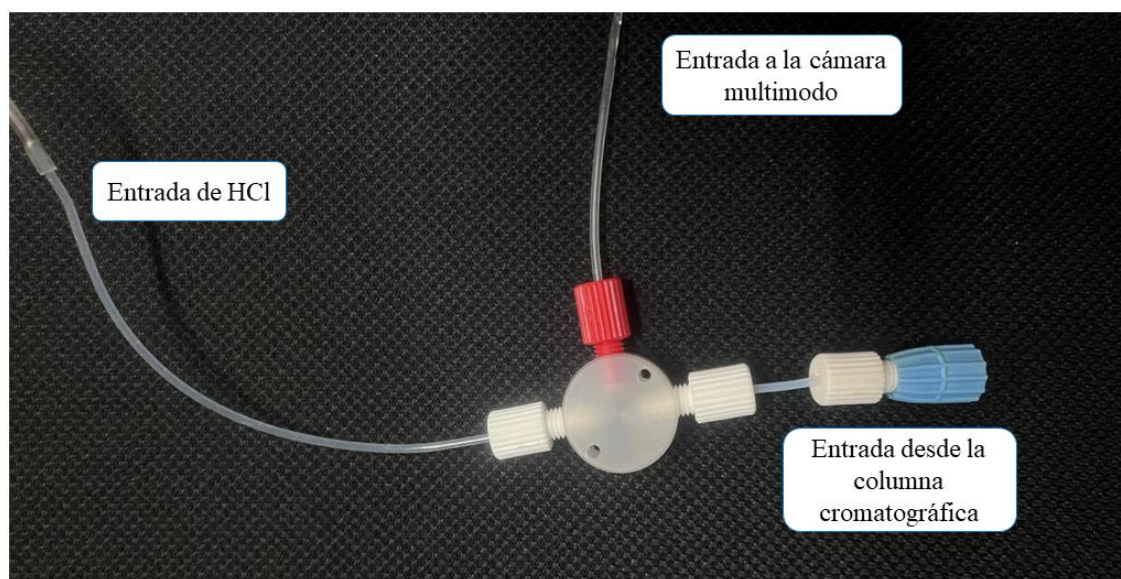


Figura 3.13 Conector de tres vías para acople entre HPLC y HG-MP-AES

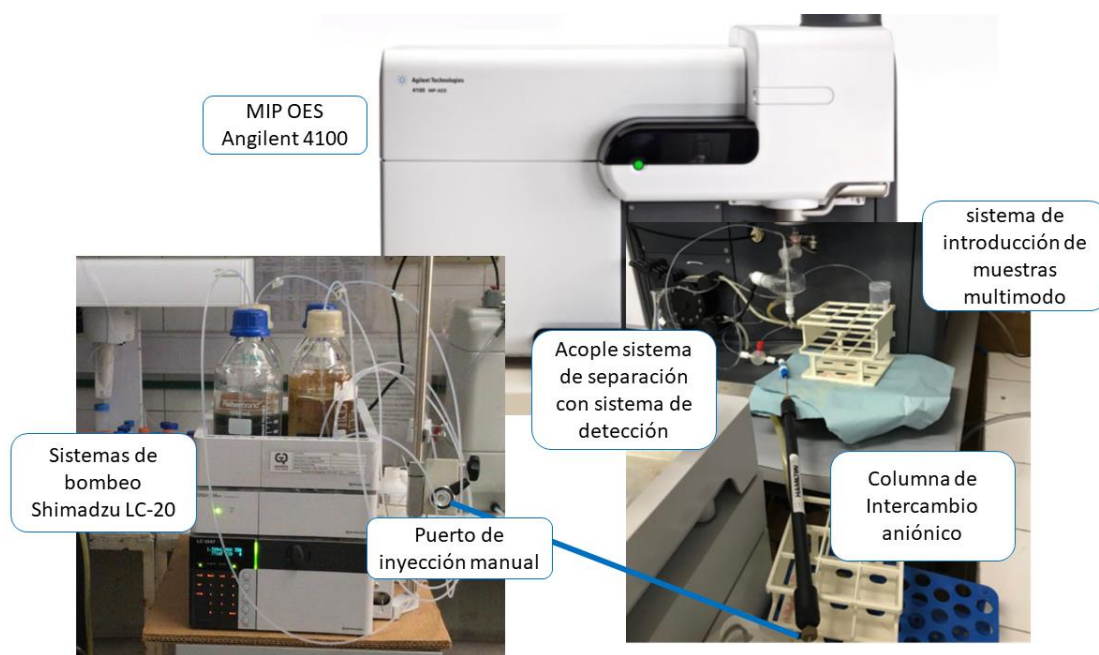


Figura 3.14 Sistema acoplado HPLC HG-MP-AES

Para la cuantificación se realizan curvas de calibración a partir de un estándar comercial de As(V) y una sal de As(III) donde se tratan cada uno de los patrones de calibración de igual manera que las muestras y blancos; dichas medidas fueron realizadas a 193,7 nm.

Para el tratamiento de los datos crudos extraídos del *software* MP EXPERT se utilizó el programa *PEAK Simple* de acceso libre. Éste es un software utilizado para el control y el análisis de datos en cromatografía de gases y cromatografía líquida, desarrollado por SRI Instruments. Con este software se pueden integrar los picos correspondientes a la fracción de As(III) y fracción de As(V) en los tiempos 2,3 min y 11,7 min respectivamente. Un ejemplo de cromatograma obtenido se puede observar en la Figura 3.15.

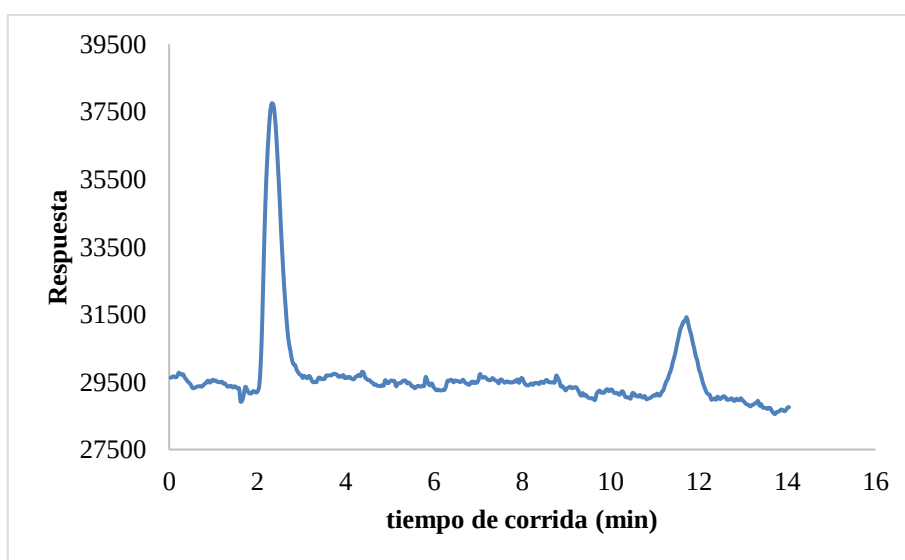


Figura 3.15 Cromatograma correspondiente a la separación de As(III) y As(V)

La determinación fue validada según la Guía Eurachem (Magnusson & Örnemark, 2014; Morilla & colaboradores, 2016), y se evaluaron linealidad, rango de trabajo, LOD y LOQ, precisión y veracidad para ambas especies simultáneamente. Los resultados de la validación y la forma de evaluar cada cifra de mérito se detallan en la Tabla 3.9.

Tabla 3.9. Cifras de mérito de la especiación de arsénico en agua (HPLC-HG-MP-AES)

Cifras de mérito HPLC - HG -MP-AES	As(III)	As(V)
Linealidad (R^2) Hasta 500 $\mu\text{g L}^{-1}$	> 0,996	> 0,994
Límite de detección ^(a) ($\mu\text{g L}^{-1}$) n=10	8	15
Límite de cuantificación ^(b) ($\mu\text{g L}^{-1}$) n=10	26	49
Precisión % (RSD) (muestras adicionadas n=10)	7,6	9,7
Veracidad: % recuperación (muestras adicionadas, n=10)	85-115	95-105
Veracidad: % recuperación (Ensayos interlaboratorios RLAU, n=10)	-	101
^(a) Calculado según Guía Eurachem, LOD (límite de detección) = $3*s$ (s: desviación estándar de los blancos). ^(b) Calculado según Guía Eurachem, LOQ (límite de cuantificación) = $10*s$ (s: desviación estándar de los blancos).		

La muestra de ensayo de aptitud, provista por la RLAU, se encuentra conservada en medio ácido, por lo que solo está presente el As(V).

Los parámetros de validación obtenidos muestran que la metodología podría ser adecuada para la separación y determinación de especies de arsénico en aguas subterráneas, aunque los límites de detección y cuantificación resultaron ser elevados en comparación con los niveles típicos de arsénico en las aguas de nuestro país (Falchi *et al.*, 2018; Cabrera, 2021). Esta metodología no sería aplicable a aguas con concentraciones dentro de los límites establecidos por la normativa de agua potable vigente ($< 20 \mu\text{g L}^{-1}$). Sin embargo, en Uruguay, se han documentado niveles de arsénico que exceden los límites establecidos, lo que sugiere que esta metodología podría ser útil para diferenciar especies de arsénico y evaluar el riesgo en áreas con niveles elevados (Manganelli *et al.*, 2007; Mañay *et al.*, 2013; Machado, Bühl, & Mañay, 2019; Falchi *et al.*, 2018; Pizzorno *et al.*, 2021; Bühl *et al.*, 2023). Además, podría ser relevante su aplicación en otras regiones geográficas con problemáticas similares, por ejemplo, Argentina y México, donde se han llegado a encontrar muestras de agua con valores del orden de los $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ (Litter, 2018; Litter *et al.*, 2019).

Una vez realizada la validación, se analizaron 4 muestras de agua subterránea de la zona sur del país. Dado que estas muestras contenían niveles cuantificables de arsénico total, pero no para el análisis de especiación, se procedió a realizar adiciones exactamente conocidas sobre las muestras de las distintas especies de arsénico de forma de evaluar su desempeño. Las recuperaciones fueron adecuadas para las fortificaciones de las dos especies (entre 85 y 115 %).

Para poder cumplir con uno de nuestros objetivos se continuó trabajando con otras técnicas separativas para lograr la especiación analítica de As(III) y As(V), lo que se describe en la siguiente subsección.

3.2.2.2. Determinación de especies de arsénico inorgánico en agua mediante sistemas acoplados *off line* (SPE/HG-MP-AES)⁴

Con el propósito poder realizar el análisis de especiación de arsénico en agua en bajas concentraciones, se procedió al desarrollo y la validación de una metodología con una separación previa de las especies inorgánicas de arsénico utilizando la técnica de SPE con cartuchos de intercambio aniónico.

El cartucho de intercambio aniónico SAX presenta como sorbente un grupo amina cuaternaria, el cual, al activarse permanece cargado positivamente, lo que proporciona un fuerte mecanismo de retención de intercambio aniónico.

Al eluir la muestra a través del cartucho, el As(III), generalmente sin protonar al pH habitual de las aguas, se recoge directamente, mientras que el As(V) queda retenido en la fase sólida, dado que normalmente es aniónico a dichos valores de pH. Posteriormente, el As(V) se eluye con una solución de HCl de concentración 1 mol L⁻¹, y luego se procede a la determinación de las fracciones separadas mediante HG-MP-AES.

⁴ Trabajo presentado en el XI Congreso Argentino de Química Analítica. 2021

Para la cuantificación se realizan curvas de calibración a partir de un estándar comercial de As(V) y una sal de As(III) donde se tratan cada uno de los patrones de calibración de igual manera que las muestras y blancos; dichas medidas fueron realizadas a 193,7 nm

Para optimizar esta metodología, se llevaron a cabo dos enfoques para la construcción de la curva de calibración utilizada en la cuantificación de las especies de arsénico: uno de ellos fue utilizar patrones y eluirlos de la misma forma que las muestras a través de los cartuchos SAX y el otro fue realizar la curva de calibración utilizando el protocolo estándar para la determinación de arsénico total mediante HG-MP-AES.

Se evaluaron muestras utilizando ambas curvas y se obtuvieron resultados semejantes, por lo que se concluyó que se obtienen resultados adecuados realizando la curva de calibración estándar con As(V) sin eluir a través de los cartuchos.

Al igual que con la metodología anterior, también se realizó la validación de la misma según la Guía Eurachem estudiando las cifras de mérito para ambos analitos. En Tabla 3.10 se describen los resultados obtenidos para la validación de la metodología SPE/HG-MP-AES. Esta metodología permite realizar la especiación analítica en los rangos de concentración de arsénico observados en las aguas uruguayas.

Tabla 3.10 Cifras de mérito de la especiación de arsénico en agua (SPE/ HG-MP-AES)

Cifras de mérito SPE / HG-MP-AES	As(III)	As(V)
Linealidad (R^2) Hasta 150 $\mu\text{g L}^{-1}$		> 0,996
Límite de detección ^(a) ($\mu\text{g L}^{-1}$) n=10	1,5	0,8
Límite de cuantificación ^(b) ($\mu\text{g L}^{-1}$) n=10	4,8	2,6
Precisión % (RSD) (muestras adicionadas, n=10)	6,2	4,3
Veracidad: % (muestras adicionadas, n=10)	83-105	85-110
^(a) Calculado según Guia Eurachem. LOD (límite de detección) = 3*s (s: desviación estándar de los blancos).		
^(b) Calculado según Guía Eurachem. LOQ (límite de cuantificación) =10*s (s: desviación estándar de los blancos).		

Los valores resultantes de la validación indican que la metodología es aplicable a los niveles de arsénico habituales de nuestro país, por lo que se selecciona este método para realizar la especiación analítica de las muestras que se estudiarán durante la Tesis.

En la Figura 3.16 se esquematiza el protocolo de laboratorio para la determinación de especies de arsénico en agua. Luego de separar las especies, éstas se determinan mediante la metodología definida para determinación de arsénico total por HG-MP-AES.

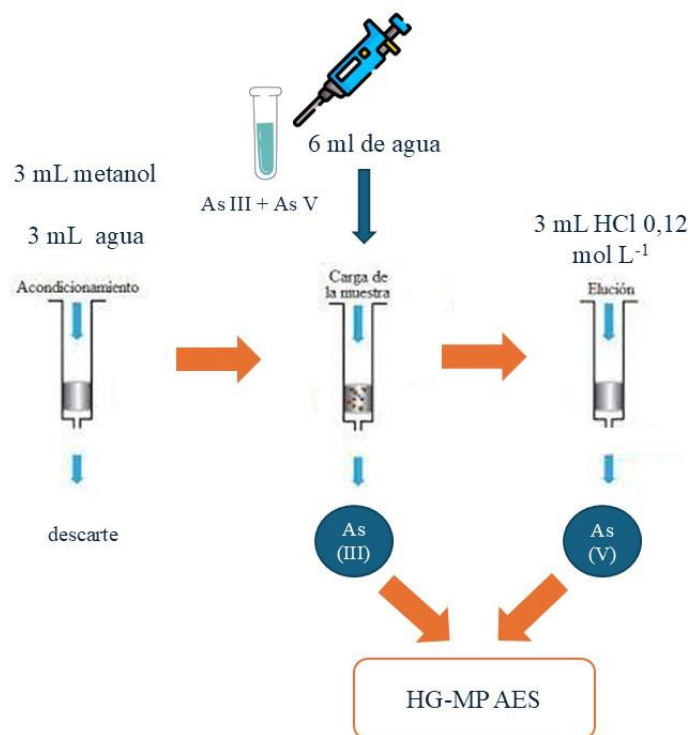


Figura 3.16 Protocolo de análisis para determinación de As(III) y As(V) en agua mediante SPE/HG-MP-AES

Dado que las aguas subterráneas analizadas, generalmente contienen niveles bajos de As(III), se trabaja determinando arsénico total en una alícuota de la muestra mediante HG-MP-AES, y en otra alícuota se realiza la determinación de As(V) por la metodología SPE/HG-MP-AES y mediante resta de ambos resultados se obtiene el valor de As(III).

Es relevante señalar que, según lo descrito por Sigrist en su Tesis doctoral de 2009, existen posibles interferencias al trabajar con muestras de agua subterránea utilizando cartuchos de intercambio aniónico. Estas interferencias pueden incluir la retención de otros aniones en el cartucho, lo que podría llevar a su saturación y, en consecuencia, afectar la efectividad de la separación de las especies de arsénico (Sigrist *et al.*, 2014; Sigrist, 2009). Para evaluar estas posibles interferencias se probó el rendimiento del cartucho utilizando aniones que aparecen habitualmente en la matriz agua subterránea. Para ello, a una muestra de agua fortificada con 20 µg L⁻¹ de As(III) y 20 µg L⁻¹ de As(V) se le adicionaron cantidades conocidas de fluoruro, sulfato, nitrato y cloruro. Las concentraciones fueron 1, 450, 150 y 800 mg L⁻¹ respectivamente. Estos valores son los valores extremos encontrados en muestras de agua

subterránea. El agua así preparada se analizó por triplicado para evaluar si se afectaba la eficiencia del intercambio aniónico en los cartuchos. Los valores de % de recuperación para As(III) estuvieron entre 100,0-103,8% y para As(V) entre 102,4-103,3. De esta forma, se concluye que la separación en fase sólida no se vería afectada por la presencia de otros aniones comunes en el agua subterránea, lo que demuestra que el uso de cartuchos de intercambio aniónico es adecuado para la determinación de especies de arsénico en este tipo de muestras.

Asimismo, se estudió cómo afectan las variaciones de pH al momento de realizar la separación en fase sólida. Para llevar a cabo este estudio, se fortificó por triplicado una muestra de agua subterránea que contenía niveles de arsénico no detectables con una concentración de As(III) de $20 \mu\text{g L}^{-1}$ y una concentración de As(V) de $20 \mu\text{g L}^{-1}$, dando un valor de fortificación de arsénico total de $40 \mu\text{g L}^{-1}$. La muestra que inicialmente se encontraba a un pH de 7,538, se acidificó con HCl diluido para obtener un pH entre 5,5 y 6,5 y para obtener un pH de 8,5 se utilizó una solución de NH_3 diluida. De este modo, se evaluó la influencia del pH en el rango de pH habitual de las aguas subterráneas.

Los valores de concentración medidos para arsénico total, y para cada una de las especies se muestra en la Figura 3.17. Vale destacar que también se grafica la sumatoria de especies para poder comparar con el valor total de arsénico.

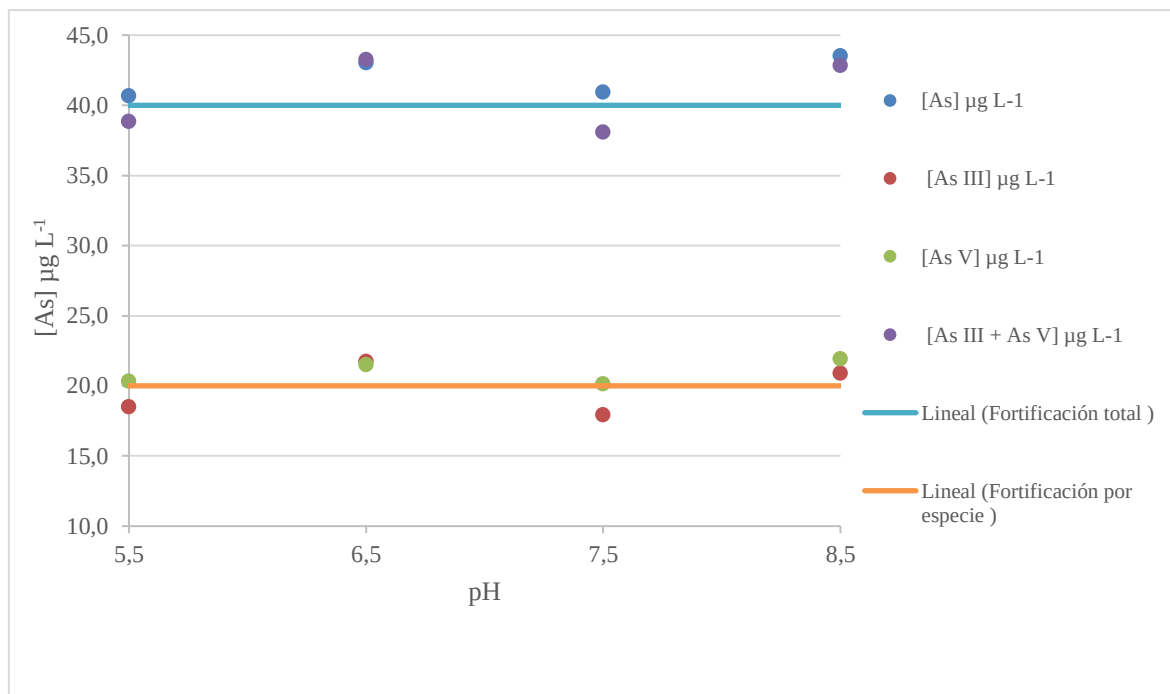


Figura 3.17 Valores promedio de concentración de arsénico total y especies de arsénico medidas a diferentes pH

En la Figura 3.17 se muestra que hay una leve variación de las concentraciones medidas a cada pH pero estas diferencias representan un sesgo menor al evaluado en el método.

Por lo tanto, las muestras estudiadas a diferentes pH se consideran sin afectaciones, según lo definido por ANSI/ASB (2019), ya que las medidas promedio obtenidas se encuentran dentro del rango de recuperación de 83-105 % para As(III) y de 85-110% para As(V). Estos resultados son comparables a los reportados por O'Reilly *et al.* (2010), quienes luego de evaluar si los cambios de pH afectaban a la separación en fase sólida, concluyen que en el rango de pH entre 5,5 y 8,5, la especiación analítica no se ve afectada.

Tabla 3.11 Concentración promedio evaluada para cada analito según valor de pH de la muestra

Analito evaluado	Conc. Estudiada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentración ($\mu\text{g L}^{-1}$) $\pm$ RSD (%) / veracidad (% recuperación)			
		pH 5,5	pH 6,5	pH 7,5	pH 8,5
As(III)	20	18,5 $\pm$ 1,0/90,0,	21,7 $\pm$ 2,1/105,6	17,9 $\pm$ 3,4/87,1	20,9 $\pm$ 1,0/102
As(V)	20	20,3 $\pm$ 1,4/101,1	21,5 $\pm$ 2,3/107,6	20,1 $\pm$ 1,3/100,7	21,9 $\pm$ 1,9/109,6
As(III) + As(V)	40	38,9 $\pm$ 0,9/93,8	43,3 $\pm$ 2,2/106,6	38,1 $\pm$ 0,9/93,8	42,8 $\pm$ 2,2/106,6
As total	40	40,7 $\pm$ 1,4/100,2	43,1 $\pm$ 2,3/106,0	41,0 $\pm$ 2,0/100,9	43,5 $\pm$ 0,6/107,2

Luego de tener la metodología validada para su uso de rutina, se procedió a la evaluación de la estabilidad de las especies (As(III) y As(V)) cuando las muestras de agua son almacenadas sin cámara de aire a una temperatura entre 2 y 8 °C. Evaluar la estabilidad implica verificar que no haya interconversión entre las especies.

Para determinar si los analitos son estables se fortificó una muestra de agua subterránea que contenía un nivel no detectable de arsénico por triplicado, en dos niveles de concentración de As(III) y As(V), 20 y 30 $\mu\text{g L}^{-1}$ para cada especie. Los triplicados de muestra fueron evaluados al momento de ser fortificados (día 0), una segunda vez a los siete días y una tercera vez a los 15 días.

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 3.12. En la misma se puede ver el promedio de concentraciones de As(III), As(V) y la sumatoria de ambos.

Tabla 3.12 Resultados del estudio de la estabilidad de las especies, As(III) y As(V), almacenados durante 15 días sin cámara de aire y en heladera

Conc. Estudiada ($\mu\text{g L}^{-1}$)		Concentración ($\mu\text{g L}^{-1}$) $\pm$ RSD (%) /veracidad (%recuperación)		
		Día 0	Día 7	Día 15
As(III)	20	20,4 $\pm$ 2,3/98,9	19,5 $\pm$ 1,5/94,5	17,9 $\pm$ 3,4/87,1
As(III)	30	30,8 $\pm$ 1,9/100,7	31,1 $\pm$ 4,3/101,6	27,7 $\pm$ 2,2/90,5
As(V)	20	19,9 $\pm$ 0,5/99,7	21,0 $\pm$ 2,5/105,0	20,1 $\pm$ 1,3/100,7
As(V)	30	30,0 $\pm$ 1,9/99,9	30,7 $\pm$ 1,6/102,5	31,0 $\pm$ 2,7/103,3
As(III) + As(V)	40	40,3 $\pm$ 1,4/99,3	40,5 $\pm$ 2,0/99,7	38,1 $\pm$ 0,9/93,8
As(III) + As(V)	60	60,8 $\pm$ 1,2/99,8	61,8 $\pm$ 2,8/101,5	58,7 $\pm$ 2,4/96,4

Los resultados de estabilidad muestran que hay una pequeña tendencia a disminuir el nivel de As(III) desde el día 0 al día 15, pero el valor hallado en cada uno de los días estudiados se encuentra dentro de la recuperación evaluada para la veracidad del método.

Para continuar estudiando las capacidades de la metodología, y con el fin de hacer a esta metodología más económica y amigable con el ambiente, se evaluó la posibilidad de reutilizar los cartuchos una segunda vez. Se fortificó una muestra de agua subterránea por triplicado con una concentración de As(III) y As(V) de 30 $\mu\text{g L}^{-1}$ cada una. Los valores obtenidos de recuperación se encontraron entre 91 y 98 % para As(III) y 96 y 106 % para As(V). Estos valores se encuentran dentro del % de recuperación esperado para el método, por lo que se concluye que los cartuchos pueden ser reutilizados una segunda vez. Para el segundo uso, los cartuchos deben volverse a tratar con metanol y agua.

A modo de discusión se retoman algunos resultados de las metodologías de determinación de especies de arsénico en agua y se describen en la siguiente subsección.

3.2.2.3. Comparación de las dos metodologías para determinación de especies inorgánicas de arsénico en agua⁵

Las dos metodologías evaluadas son adecuadas para la realización de la especiación analítica. Sin embargo, en el caso de la metodología acoplada HPLC-MP-AES, los límites de detección y cuantificación evaluados no se adecúan a los niveles de arsénico hallados en la mayoría de las aguas subterráneas del Uruguay (Bühl *et al.*, 2023; Mañay *et al.*, 2019; Machado, Bühl, & Mañay, 2019).

Tabla 3.13 Comparación de metodologías de especiación de arsénico en agua

	HPLC-HG-MP-AES		SPE/HG-MP-AES	
	As(III)	As(V)	As(III)	As(V)
Rango de trabajo ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Hasta 500		Hasta 150	
LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	8	15	1,5	0.8
LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	26	49	4,8	2,6
Precisión intermedia (%)	7,6	9,7	6,2	4,3
Veracidad (%)	85-115	95-105	83-105	85-110
Frecuencia analítica	4 muestras en 1 h		12 muestras en 1 h	

Según los autores Mohammed & Miah (2021), el método SPE es una técnica de separación muy eficiente para la especiación de arsénico, no solo en matrices ambientales sino también en muestras biológicas. Otros autores, como Sigrist (2009) sostienen la eficiencia de la separación con SPE en la recuperación aceptable, la capacidad de preconcentración, el bajo costo y la facilidad de combinarse con los sistemas de detección de arsénico más utilizados.

En nuestro caso, dada sus características de desempeño, en especial los límites de detección y cuantificación y su bajo costo, es la metodología elegida para la especiación de arsénico inorgánico en agua subterránea.

⁵ Trabajo presentado en forma oral en el 7º Congreso Uruguayo de Química Analítica. Montevideo 2022

A continuación, se cambiará de matriz de análisis y se describirá la metodología de determinación de arsénico en orina.

3.2.3. Metodología para la determinación de biomarcadores de arsénico en orina^{6, 7}

El biomonitoreo de exposición al arsénico a través de consumo de agua implica conocer los niveles de las especies toxicológicamente relevantes de arsénico en orina, que representa el biomarcador de elección para la exposición al arsénico inorgánico, siendo éste el más tóxico. Es importante destacar que la determinación de arsénico total en orina no es adecuada para evaluar la exposición al arsénico inorgánico, ya que en este caso se estaría evaluando la exposición tanto a arsénico inorgánico como a arsénico orgánico.

Una estrategia utilizada para evitar que una muestra de orina contenga arsénico orgánico proveniente de la dieta, implica solicitar que no se consuman alimentos como pescados o mariscos, los cuales pueden contener arsénico orgánico, en los días previos a la toma de muestra. Sin embargo, esta estrategia presenta el inconveniente de la falta de adherencia a la solicitud por parte de los individuos. Para superar este inconveniente, se ha desarrollado una metodología capaz de evaluar solamente las especies toxicológicamente relevantes, permitiendo así determinar el biomarcador de exposición al arsénico inorgánico. Esta posibilidad se da por el tratamiento previo de la muestra con L-cisteína. Cuando se trata una muestra de orina con L-cisteína, solamente las especies inorgánicas y sus metabolitos (As(III), As(V), MMA y DMA) pueden formar compuestos tioderivados capaces de formar el hidruro volátil en medio ácido al reducirlo posteriormente con NaBH₄ (Carrero *et al*, 2001; Le, Cullen, & Reimer, 1994; Guo, Baasner, & Tsalev, 1997; Navoni, Olivera, & Villaamil, 2009; Bühl *et al.*, 2015). Los compuestos tioderivados tienen todos al arsénico en su estado de oxidación III, por lo que existe una reducción de las especies que contienen As(V);

⁶ Trabajo en el marco de la beca de Maestría de ANII. ANII - POS_NAC_2019_1_158255

⁷ Trabajo presentado en forma oral en el Congreso Regional Latinoamericano 18^a de Toxicología Forense. 2023

posteriormente los compuestos tioderivados reaccionan con NaBH_4 para producir las correspondientes arsinas (Le, Cullen, & Reimer, 1994).

En la Figura 3.18 se esquematiza el mecanismo propuesto para la formación de los compuestos tioderivados a partir de las especies toxicológicamente relevantes y la formación de su correspondiente hidruro volátil, donde Le (1993) destaca que presentan una equivalente velocidad de formación de los hidruros.

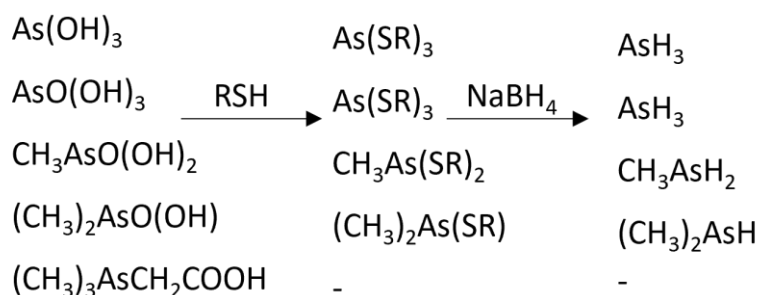


Figura 3.18 Mecanismo propuesto para la formación de hidruros para las especies de arsénico presentes en orina utilizando L-cisteína donde R: $-\text{CH}_2\text{C}(\text{NH}_2)\text{COOH}$. Adaptado de Le (1993).

Este mecanismo permite la cuantificación precisa de la cantidad total de las cuatro especies toxicológicamente relevantes ($\text{As}(\text{III}) + \text{As}(\text{V}) + \text{MMA} + \text{DMA}$). La arsenobetaina ($(\text{CH}_3)_3\text{AsCH}_2\text{COOH}$), que puede llevar a una sobreestimación de la exposición a arsénico inorgánico (iAs) como se explicó anteriormente, no se cuantifica ya que no forma hidruros.

La optimización y la validación de esta metodología se encuentran en el siguiente apartado.

3.2.3.1. Determinación de especies de arsénico toxicológicamente relevantes en orina⁸

Se optimizó una metodología que permite cuantificar las especies toxicológicamente relevantes como indicador de exposición al arsénico mediante HG-MP-AES.

⁸ Trabajo publicado en Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy (Pizzorno *et al.*, 2023)

En la etapa de prerreducción, la muestra de orina fue diluida al medio con una disolución de L-cisteína 2 %^{m/v} en HCl 0,24 mol L⁻¹ para reducir todo el arsénico allí presente a As(III) y también obtener el medio ácido necesario para la posterior generación de la arsina. Para la generación del compuesto volátil se utilizó NaBH₄ 2 %^{m/v} en NaOH 0,5 %^{m/v}.

Para cuantificar el arsénico se realizó una curva de calibración en matriz con estándares de As(V) hasta 250 µg L⁻¹ y se preparó de igual manera que a las muestras y blancos. El efecto matriz se estudió mediante la comparación entre las curvas de los patrones de As(V) preparados en un *pool* de orinas (conjunto de orinas provenientes de adultos voluntarios, sanos, no expuestos laboralmente al arsénico) y en agua. Se realizó la prueba t de *Student* y se verificó que la pendiente de la curva de calibración en agua difiere significativamente de la pendiente obtenida para la curva de calibración en orina.

El resultado para el test t fue de 2,776. Este valor es menor a 45,1, que es el valor t (0,05,3). Por lo tanto, el método propuesto se desarrolló utilizando una calibración emparejada por matrices.

Al igual que las mediciones de arsénico en agua, antes del análisis la posición de visualización y el flujo del nebulizador fueron optimizados con el software comercial del instrumento, utilizando una muestra de orina adicionada con 50 µg L⁻¹ de estándar de As(V).

En la Figura 3.19 se esquematiza el protocolo de análisis para la determinación de especies de arsénico toxicológicamente relevantes en orina mediante HG-MP-AES.

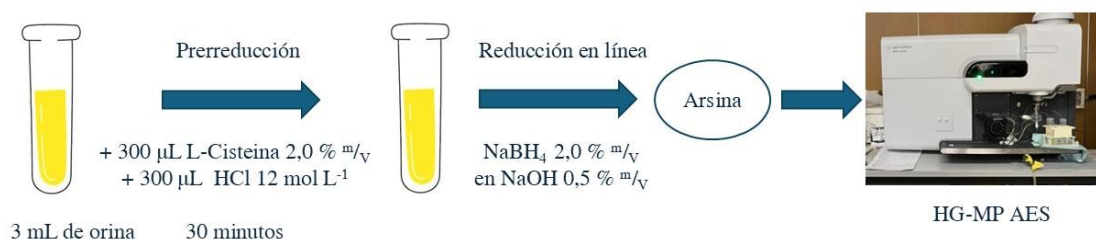


Figura 3.19 Protocolo de análisis para determinación de especies de arsénico toxicológicamente relevantes en orina mediante HG-MP-AES

Para conocer si la determinación era apta para el fin propuesto, se realizó la validación estudiando diferentes cifras de mérito, como linealidad precisión, veracidad, LOD y LOQ. Para la validación y también durante el desarrollo se utilizaron muestras de ensayos interlaboratorios del programa alemán G-EQUAS en las mismas condiciones instrumentales que las detalladas en el apartado de condiciones instrumentales.

Como resultado de la primera etapa se obtuvo una metodología capaz de determinar especies toxicológicamente relevantes hasta una concentración de $250 \mu\text{g L}^{-1}$, valor que se puede alcanzar tanto en una intoxicación aguda como crónica.

Los parámetros estudiados para la validación se observan en la Tabla 3.14.

Tabla 3.14 Cifras de mérito para la determinación de arsénico en orina (HG-MP-AES)

Cifras de mérito	Criterio Asignado	Resultado
Linealidad (R^2)	$> 0,990$	$> 0,994$
Límite de detección ^(a) ($\mu\text{g L}^{-1}$) n=10	$< 3,5$	1,2
Límite de cuantificación ^(b) ($\mu\text{g L}^{-1}$) n=10	$< 7,0$	5,3
Rango de trabajo ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Hasta 50	5,3 a 250
Precisión: RSD % (muestras adicionadas, n=10)	< 10	< 8
Veracidad: % recuperación (muestras adicionadas, n=10)	70 - 130	80-120

^(a) Calculado según Guía Eurachem, $\text{LOD} = 3*s$ (s: desviación estándar de los blancos).

^(b) Calculado según Guía Eurachem. $\text{LOQ} = 10*s$ (s: desviación estándar de los blancos).

Los resultados de la participación periódica en el esquema de control externo de la calidad G-EQUAS se muestran en la Tabla 3.15, donde puede verse que los valores siempre estuvieron dentro del rango de aceptación. Esto demuestra el buen desempeño de la metodología

Tabla 3.15 Resultados de la prueba de aptitud G-EQUAS (control de orina 2A/2B).

Rondas	Concentración ($\mu\text{g L}^{-1}$)			
	Rango de tolerancia 2A	Resultado 2A	Rango de tolerancia 2B	Resultado 2B
63	17 ± 5.1	12.5	157 ± 27.3	140
64	29 ± 8.1	21.4	76 ± 16.8	92
66	34 ± 6.6	34.4	139 ± 19.5	144
71	$14,0 \pm 4,5$	11,9	$52,2 \pm 11,0$	66

En resumen, se logró desarrollar una herramienta analítica de relevancia que podrá ser aplicada al biomonitorio de población ambientalmente expuesta, así como a los trabajadores expuestos.

Se realizó una comparación con otra metodología de determinación de especies toxicológicamente relevantes en orina, que utiliza espectrometría de absorción atómica. Se contaba con una metodología disponible antes validada para la evaluación de rutina de arsénico en orina en CEQUIMTOX por HG-FAAS (Bühl *et al.*, 2015), por lo que se utilizó la misma como método de referencia para la validación de la propuesta a desarrollar, mediante esta técnica alternativa HG-MP-AES. Para ello se analizaron muestras de orina de trabajadores expuestos a arsénico, previamente medidas mediante HG-FAAS. Los resultados de las muestras determinados con ambas metodologías se compararon estadísticamente mediante un test de hipótesis conjunto de la pendiente y la ordenada en el origen para la recta de regresión. Se considera que los resultados obtenidos por ambos métodos son iguales si la recta de regresión tiene pendiente (b) 1 y ordenada en el origen (a) 0. Se realizó el test $H_0: a = 0; b = 1$; H_A : no H_0 . H_0 puede ser aceptada si el valor experimental del estadístico es $F_{\text{exp}} \leq F(1-\alpha, 2, n-2)$.

La comparación entre HG-MP-AES y el método utilizado en el análisis de rutina (HG-FAAS), mostró una buena concordancia para 30 muestras de orina de trabajadores expuestos. Se obtuvo una correlación adecuada ($R^2 = 0,9653$) con una pendiente (0,9951) y una intersección (0,0616) como se ve en la Figura 3.20.

Para confirmar estadísticamente los valores se realizó el test de hipótesis conjunto de la pendiente y la ordenada en el origen para la recta de regresión. El valor experimental del estadístico F_{exp} fue 0,89 siendo menor que el valor de tabla (3,385; $F_{0,05;2;28}$). Con este resultado se aceptó la hipótesis nula, lo que demuestra que la pendiente no difiere significativamente de 1 y que la ordenada en el origen no difiere significativamente del valor 0.

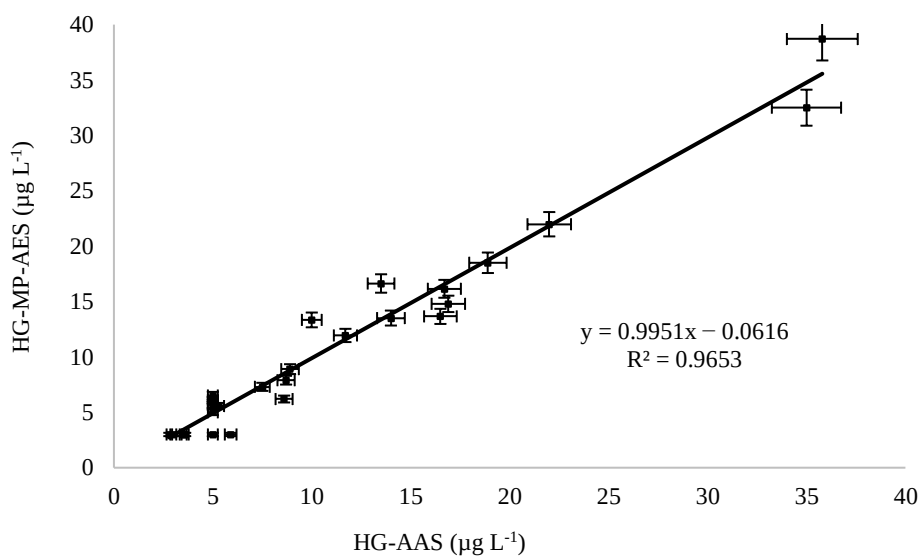


Figura 3.20 Comparación de los resultados obtenidos de As orina de trabajadores expuestos mediante HG-FAAS y HG-MP-AES

La validación del método se realizó, además, de acuerdo con las Prácticas estándar del Grupo de Trabajo Científico de Toxicología Forense (SWGTOX por sus siglas en inglés *Scientific Working Group for Forensic Toxicology*) para la validación de métodos principalmente en toxicología forense (ANSI/ASB, 2019). Esta guía cuenta con parámetros de desempeño y criterios de aceptación más adecuados para muestras biológicas. En esta oportunidad, además de trabajar parámetros evaluados anteriormente como precisión y veracidad se estudió la estabilidad de congelado y descongelado de la muestra.

Los resultados de la validación también fueron adecuados a nuestro propósito de biomonitorio de personas expuestas ambientalmente al arsénico. En la Tabla 3.16 se muestran los resultados para límite de detección y cuantificación y la exactitud del ensayo.

Tabla 3.16 Resultado de las cifras de mérito según Prácticas estándar del Grupo de Trabajo Científico de Toxicología Forense (SWGTOX)

Cifras de mérito		Resultados	
LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)		1,77	
LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)		5,37	
Conc. estudiada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	10 (n=15)	35 (n=15)	100 (n=15)
Criterio asignado precisión (%)	< 20	< 20	< 20
Precisión Intra-ensayo (%)	6,17	3,19	1,81
Precisión Inter-ensayo (%)	15,2	6,78	8,96
Criterio asignado veracidad (%)	< 10	< 10	< 10
% R. (%)	94,6	97	97

La estabilidad de las muestras se estudió para diferentes circunstancias: estabilidad a corto plazo, estabilidad luego de preparada la muestra, luego de tres ciclos de congelado y descongelado en freezer y estabilidad a largo plazo. Las características estudiadas y los resultados se describen en la Tabla 3.17.

Tabla 3.17 Estudio de estabilidad de la muestra

Conc. Estudiada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentración ($\mu\text{g L}^{-1}$) $\pm$ RSD ($\mu\text{g L}^{-1}$) / veracidad (% R)			
	Estabilidad a corto plazo (22 °C/6 h)	Estabilidad postproceso (22 °C/6 h después de la preparación)	Estabilidad luego de tres ciclos de congelado y descongelado	Estabilidad a largo plazo (-20 °C/15 días)
35	31,9 $\pm$ 2,7/91,3	36,9 $\pm$ 8,8/103,3	37,0 $\pm$ 1,9/105,6	36,5 $\pm$ 2,0/104,2
100	97,4 $\pm$ 0,1/97,4	82,2 $\pm$ 5,3/82,2	101,4 $\pm$ 6,0/101,4	103,5 $\pm$ 1,4/103,5

Los resultados muestran que las concentraciones de especies de arsénico toxicológicamente relevantes en orina fueron estables a temperatura ambiente durante 6 h y que la muestra cumplió los criterios de SWGTOX para la estabilidad de guardado estudiada para 15 días. Asimismo, se demostró que las muestras pre reducidas con L-cisteína podían ser analizadas a las 6 h de preparadas.

En la siguiente y última sección se muestra la metodología de determinación de K, Mg, Ca y Mn.

3.2.4. Metodologías para determinación de potasio, magnesio, calcio y manganeso en agua mediante MP-AES

Para poder estudiar otras características del agua que pudieran vincularse a la presencia de arsénico en las aguas subterráneas, se validó la determinación directa de los metales K, Mg, Ca y Mn mediante MP-AES.

Para estas determinaciones también fue utilizado el equipo MP-AES con el muestreador automático. La introducción de la muestra se realiza mediante un nebulizador concéntrico *OneNeb* con una cámara ciclónica de vidrio de doble paso, como se muestra en la Figura 3.21.

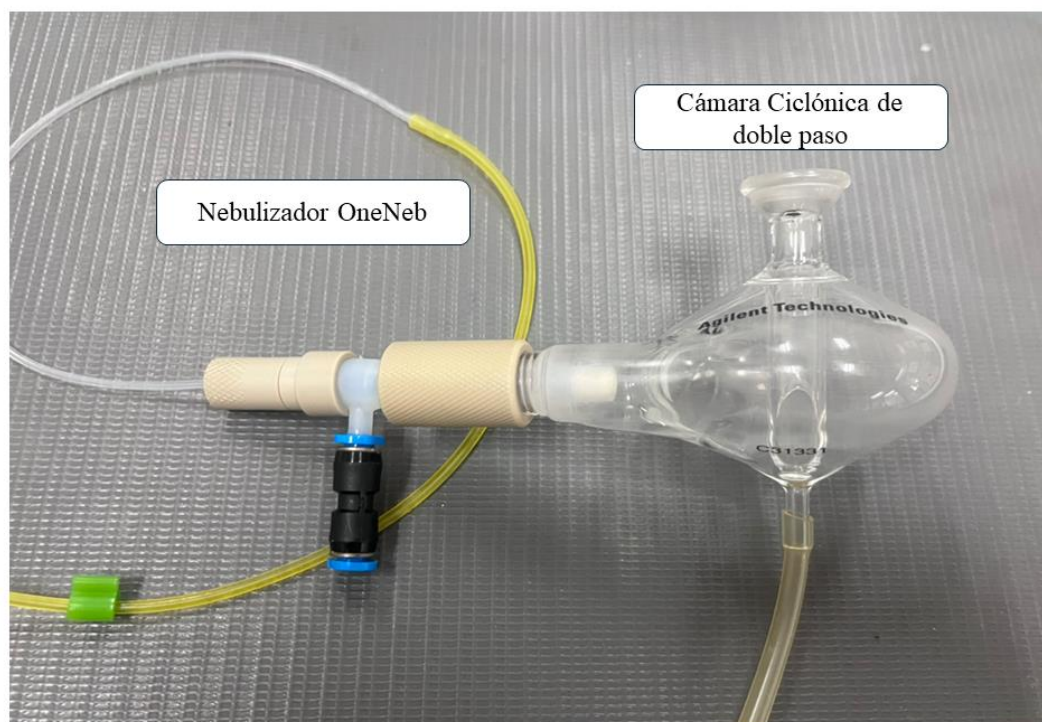


Figura 3.21 Cámara ciclónica de doble paso con nebulizador OneNeb

Debido a los rangos de trabajo del equipo y a las concentraciones de los analitos en las muestras de agua subterránea, las determinaciones no pudieron hacerse de manera simultánea, por lo que se determinó cada analito por separado. Las condiciones instrumentales se detallan en la Tabla 3.18.

Tabla 3.18 Condiciones instrumentales para la medida de K, Mg, Ca y Mn.

Condiciones instrumentales	
Velocidad de la bomba (rpm)	15
Tiempo de lectura (s)	3
Tiempo de estabilización (s)	15
Tiempo de salida del automuesteador con bomba rápida (s)	70

Para cada elemento estudiado se trabajó con diferentes longitudes de onda, que fueron seleccionadas según la sugerencia del software MP Expert, priorizando la sensibilidad y la ausencia de interferencias. Las longitudes de trabajo se describen en la Tabla 3.19.

Tabla 3.19 Longitudes de onda específicas de cada elemento determinado

λ K (nm)	λ Mg (nm)	λ Ca (nm)	λ Mn (nm)
766,491	285,213	393,366	403,076

Para la validación se determinaron las siguientes cifras de mérito: linealidad, rango de trabajo, LOD y LOQ, precisión y veracidad.

A continuación, pueden verse los procedimientos y los resultados de la validación.

3.2.4.1. Determinación de potasio, magnesio, calcio y manganeso en agua mediante MP-AES

Para la determinación de K, Mg, Ca y Mn la muestra se introduce directamente a la cámara ciclónica de doble paso mediante el muestreador automático. Previo a cada análisis se estableció la posición de visualización y el flujo del nebulizador automáticamente con el programa MP EXPERT.

Para realizar las curvas de calibración se utiliza un estándar multielemento, pero dado el diferente rango lineal de cada elemento, se realizan diferentes diluciones de este estándar para obtener las diferentes curvas de calibración.

Los resultados se muestran en la Tabla 3.20, donde se puede ver que los mismos son adecuados para nuestro propósito.

Tabla 3.20 Cifras de mérito para la determinación de potasio en agua por MP-AES

Cifras de mérito	Resultado K	Resultado Mg	Resultado Ca	Resultado Mn
Linealidad (R^2)	>0,998	>0,991	>0,994	>0,996
LOD ^(a) (mg L ⁻¹) n=10	0,02	0,02	0,01	0,01
LOQ ^(b) (mg L ⁻¹) n=10	0,08	0,08	0,04	0,04
Rango de trabajo (mg L ⁻¹)	0,08-5,0	0,08-10,0	0,04-10,0	0,04-2,0
Repetibilidad (RSD, %) n=10	1,4	1,5	0,5	1,4
Veracidad (muestras certificadas LATU, % de recuperación) n=10	97,4-103	110-114	102-103	91,7-95,7

^(a) Calculado según Guía Eurachem, LOD = 3*s (s: desviación estándar de los blancos).

^(b) Calculado según Guía Eurachem, LOQ = 10*s (s: desviación estándar de los blancos).

Los resultados de los parámetros estudiados muestran que la metodología es apta para la evaluación de potasio y manganeso en aguas subterráneas.

Los resultados de la validación para el magnesio fueron adecuados para el fin propuesto exceptuando que el rango de trabajo hallado fue menor que el necesario ya que la condición de linealidad no se cumple hasta 20 mg L⁻¹, que es el valor máximo esperado en las muestras de agua. Por esta razón las muestras de agua subterránea son medidas con una dilución a la mitad para poder cuantificar el magnesio.

Al igual que el magnesio, el calcio no logró llegar a tener un rango lineal adecuado para poder cuantificar los niveles de calcio en agua subterránea ya que la linealidad se cumplió hasta 10 y las muestras debieron ser diluidas 1/14 para poder cuantificarlo.

3.3. Conclusiones parciales sobre el desarrollo y la validación de metodologías analíticas

- Quedaron disponibles para el trabajo de laboratorio las metodologías para las siguientes determinaciones:
 - Determinación de arsénico total en agua
 - Mediante HG-FAAS
 - Mediante HG-MP-AES
 - Determinación de especies de arsénico en agua mediante SPE/HG-MP-AES
 - Determinación de especies de arsénico toxicológicamente relevantes en orina mediante HG-MP-AES
 - Determinación de potasio, magnesio, calcio y manganeso en agua mediante MP-AES

Capítulo 4. Análisis de muestras de agua de pozo: determinación de arsénico total y sus especies inorgánicas⁹

En este capítulo, se llevará adelante el segundo objetivo general de la Tesis, en el que se describen los resultados de aplicar las metodologías analíticas desarrolladas anteriormente (Capítulo 3) en diferentes muestras de pozos de agua subterránea utilizados para abastecimiento humano. Conocer los niveles de arsénico total en agua y las concentraciones de las especies inorgánicas en diferentes zonas de nuestro país permite realizar un monitoreo ambiental del agua.

Las muestras obtenidas para el análisis se consiguieron a través de diferentes marcos de investigación asociados, que fueron llevados a cabo en el transcurso de esta Tesis.

Se tomaron muestras de agua de pozos utilizados para consumo humano en los departamentos de Treinta y Tres, Canelones, Colonia, Florida, Durazno, Montevideo, San José y Rivera. Las localidades muestreadas se pueden observar en el mapa de la Figura 4.1.

⁹ Trabajo presentado como expositor en el II Simposio de arsénico en agua subterránea. 2022

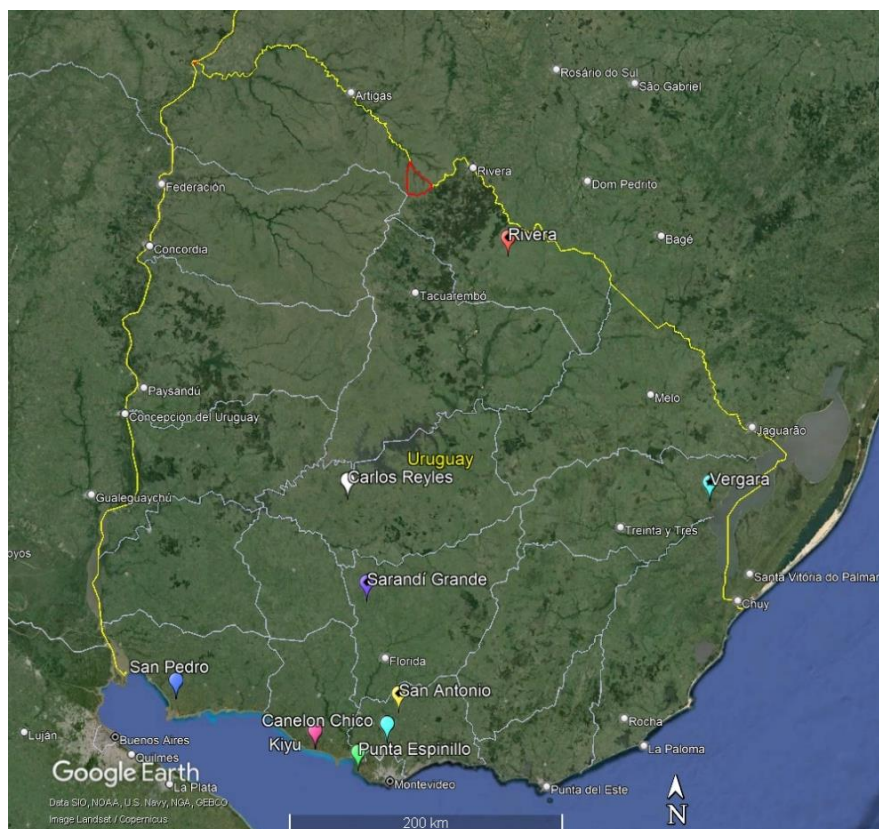


Figura 4.1 Zonas muestreadas en Uruguay para análisis de arsénico total y sus especies inorgánicas - Realizado con Google Earth

Para mejor organización de la información y a modo de facilitar la lectura, en la Tabla 4.1 se muestra de qué departamento son originarias las muestras, a través de qué proyectos o vínculos de investigación fueron obtenidas y quién realizó la toma de muestra. Además, se describe el número de muestras y qué porcentaje del total de las muestras presentaron valores de arsénico total que superaron los $20 \mu\text{g L}^{-1}$, valor máximo permitido definido por la normativa nacional UNIT 833/2010 (UNIT 833:2008, 2010).

Tabla 4.1 Datos de obtención y resultados de las muestras estudiadas

Origen	Proyecto	Responsable del muestreo*	N° de pozos muestreados	% de pozos > 20 $\mu\text{g L}^{-1}$
Treinta y Tres	Proyecto CSIC INI Trabajo en conjunto con Arrocería 33	Paulina Pizzorno y Lucia Falchi	49	0
Canelones	Beca de maestría (PP) ANII-POS_NAC_2019_1_158255	Paulina Pizzorno y participantes	37	62
Colonia	Proyecto “Más agua para el desarrollo” rural” con CASSPE	Paulina Pizzorno y Virginia Strambini	38	26

Origen	Proyecto	Responsable del muestreo*	N° de pozos muestreados	% de pozos > 20 $\mu\text{g L}^{-1}$
San José	Proyecto PAIE 2020 N° 5. Proyecto CTAgua-Efice-Udelar	Estudiantes	10	10
Montevideo	Tesis de Grado F. Cien	Tesista	22	27
Florida y Durazno	UTEC-Udelar	Docente asociado UTEC-Durazno	15	20
Rivera	Tesis de Grado F. Cien	Tesista	14	0

* El muestreo se realizó según las pautas establecidas según el Apéndice 1.

Como describe la Tabla 4.1, y se refirió anteriormente, muchas de las muestras fueron obtenidas en trabajos de colaboración y con vínculos con el medio.

En la toma de muestra se siguió el protocolo de muestreo, definido en el marco de esta Tesis, que se muestra en el Apéndice 1. Este protocolo está basado en las recomendaciones dadas

por las investigadoras Litter, Armienta & Farías en el libro Iberoarsen (2009) y los estudios realizado por Sigrist (2009) y con base en el estudio de estabilidad realizado en esta investigación.

Las muestras fueron analizadas en un periodo no mayor a 15 días posteriores a la realización del muestreo, con el fin de cuantificar el arsénico total y sus especies inorgánicas. Los valores obtenidos de las especies de arsénico permitieron conocer la situación en varias localidades de Uruguay, mientras que los valores de arsénico total fueron insumos para realizar una evaluación de riesgos a la salud por exposición a arsénico a través del agua. Los resultados de esta evaluación se describen en el Capítulo 5.

En los siguientes apartados, agrupados por departamento, se describe cómo se realizó el plan de muestreo y los resultados del análisis de las muestras de agua. La determinación de arsénico total se realizó mediante el procedimiento descrito en 3.2.1.2 (HG-MP-AES), mientras que la especiación analítica de las especies inorgánicas se describe en el 3.2.2.2 (SPE/HG-MP-AES).

4.1 Treinta y Tres¹⁰

El trabajo en el departamento de Treinta y Tres surge a través del vínculo de algunas investigadoras y una empresa arrocera de dicho departamento. Como es conocido, este departamento se caracteriza por su producción de arroz, un cultivo que requiere un uso intensivo de agua. Las determinaciones de arsénico en este caso se realizaron con el método 3.2.1.1 (HG-FAAS).

4.1.1 Muestreo

Se tomaron muestras de agua superficial y subterránea en el predio de la arrocera. El muestreo realizado fue no probabilístico por conveniencia. Las muestras de agua superficial se obtuvieron en diferentes puntos dentro de la arrocera, incluyendo agua de la Laguna Merín

¹⁰ El trabajo realizado fue publicado la Revista del Laboratorio Tecnológico del Uruguay (Falchi *et al*, 2018).

y de los canales que abastecen las plantaciones. Además, se recolectaron muestras de agua subterránea de cuatro pozos que abastecen tanto a la planta industrial como al pequeño poblado de trabajadores, así como de un quinto pozo en la escuela cercana a la arrocería. Estas muestras provienen del acuífero Chuy. En total, se recolectaron 42 muestras, las cuales fueron sometidas a análisis para la determinación de arsénico total.

4.1.2 Resultados y discusión de las determinaciones analíticas

En la Tabla 4.2 se muestran los resultados obtenidos en las muestras estudiadas en la zona arrocería evaluados según la metodología descrita en el Capítulo 3. Los mismos se agrupan en aguas superficiales y aguas subterráneas. A modo de agilizar la lectura, para las aguas subterráneas se agrupan los datos obtenidos por cada uno de los cuatro pozos de la arrocería.

Tabla 4.2. Concentración promedio de arsénico en aguas superficiales y aguas subterráneas de las diferentes muestras tomadas en Treinta y Tres

Concentración promedio de arsénico en aguas superficiales $\mu\text{g L}^{-1}$		Concentración promedio de arsénico en aguas subterráneas $\mu\text{g L}^{-1}$	
Lagunas (n=6)	Canales (n=16)	Pozo escuela (n=2)	Pozos arrocería (n=18)
< 1,5	< 1,5	5,6	6,5
Mín/Max	Mín/Max	Mín/Max	Mín/Max
<0,5 / 2,2	<0,5 / 2,4	4,7 / 6,4	<1,5 / 10,3

Podemos ver que, tanto para las aguas superficiales como para las subterráneas se cumplieron con las especificaciones de la norma nacional UNIT 833:2008 (UNIT 833:2008, 2010), la cual fija un VMP de arsénico total $20 \mu\text{g L}^{-1}$ para agua potable y también con el valor máximo recomendado por la OMS para arsénico total de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ con excepción de una muestra que presentó una concentración de $10,3 \mu\text{g L}^{-1}$.

Esto es de gran relevancia, ya que las aguas subterráneas de pozo son las que abastecen a la población de la zona, y no se observaron anomalías significativas en la concentración de

arsénico en las aguas que consumen. Al comparar los resultados entre las aguas superficiales y subterráneas se observaron diferencias entre las concentraciones encontradas. Las muestras provenientes de aguas superficiales en su mayoría poseen concentraciones bajas, menores al LOQ ($1,5 \mu\text{g L}^{-1}$), mientras que las subterráneas presentan casi en su totalidad concentraciones de arsénico mayores a $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$.

Los niveles de arsénico en agua superficial por debajo de los valores de arsénico en agua subterránea se acompañan con la literatura, demostrando que la presencia de este contaminante se da de manera natural. Como describe Lillo (2008), si no hay aporte de la contaminación antrópica el nivel de arsénico en lagos y ríos se encuentra en torno a $0,8 \mu\text{g L}^{-1}$.

Los valores relativamente bajos hallados en las aguas subterráneas son comparables a los reportados por OSE en el departamento (Cabrera, 2021).

4.2 Canelones¹¹

Canelones es un departamento que se destaca por albergar la mayor población rural del país. Según el Censo Nacional de 2011, los habitantes rurales superan las 48 mil personas, lo que representa casi un 10% de la población total del departamento (IC, 2011).

Se decidió trabajar en este departamento debido a los antecedentes recabados respecto a niveles elevados de arsénico en el agua subterránea de esta área, según datos proporcionados por OSE (Cabrera, 2021). Además, la suscrita autora de esta Tesis ha residido en la zona rural del departamento desde su nacimiento, lo que motivó aún más la elección de Canelones.

4.2.1 Muestreo

En el departamento de Canelones se tomaron muestras de pozos privados que los residentes utilizan para consumo humano. El muestreo se llevó a cabo en la zona de Canelón Chico, un

¹¹ Trabajo presentado en forma de poster en el XXII Congreso Argentino de Toxicología. 2021

paraje rural donde algunos sectores cuentan con acceso a agua de OSE, mientras que otros dependen todavía de pozos surgentes o brocales para el consumo de agua. Además, se tomaron muestras en la zona rural del municipio de San Antonio, donde la única fuente de agua es el agua subterránea.

Canelón Chico es una extensa zona rural situada en el suroeste del departamento, mientras que San Antonio se ubica en el centro oeste del mismo.

Entre las dos localidades se tomaron 37 muestras de agua subterránea y la ubicación de los pozos puede verse en la Figura 4.2. Las muestras fueron tomadas por conveniencia y, en algunos casos, fueron proporcionadas por los propios dueños del predio donde se encontraba el pozo. Para la toma de las muestras se siguió el protocolo de muestreo descrito en el Apéndice 1. Se extrajeron muestras tanto de la canilla en el pozo como de la canilla posterior al almacenamiento del agua. En este muestreo no se registró la profundidad de los pozos por lo que no se pudo conocer con certeza a qué acuífero pertenecen estas aguas. Se recolectaron las muestras en un período de dos meses aproximadamente. Los puntos 1, 2 y 3, marcados en rojo en la Figura 4.2 son lugares ya muestreados en los que se volvió a tomar muestra unos meses más adelante.

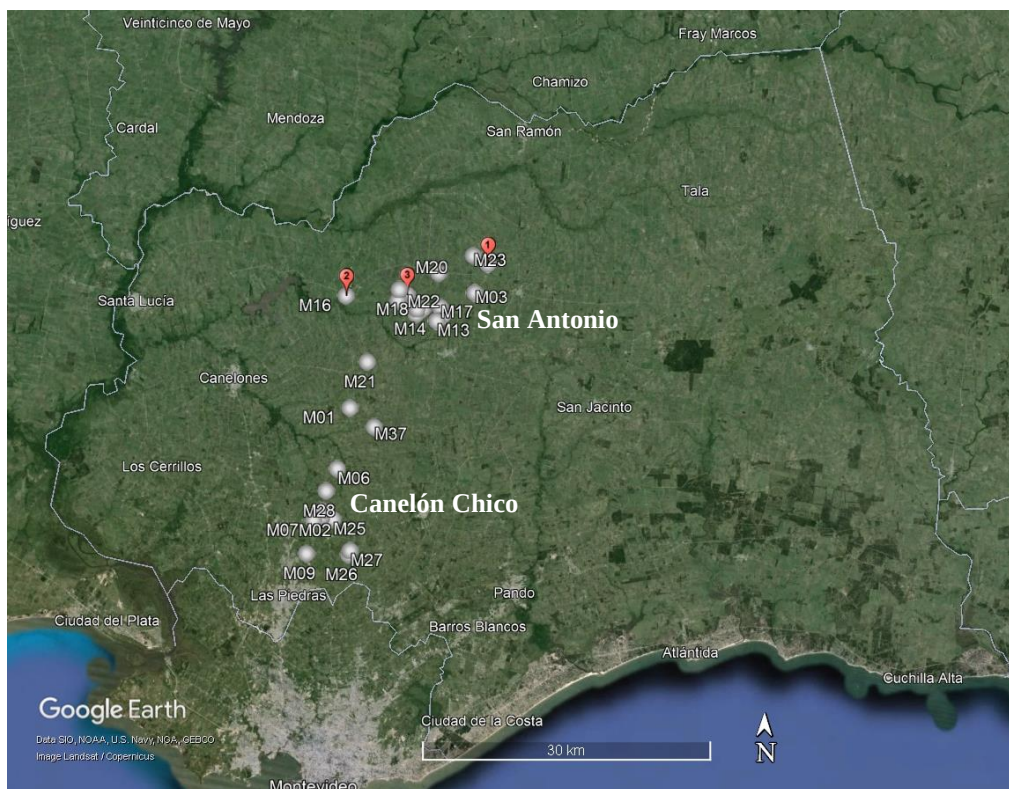


Figura 4.2 Localización geográfica de las muestras de agua subterránea tomadas en las localidades de Canelón Chico y San Antonio (Canelones). Realizado en Google Earth.

Las muestras obtenidas fueron sometidas al análisis de arsénico total y a la especiación analítica.

4.2.2 Resultados y discusión de las determinaciones analíticas

Las muestras de agua se analizaron mediante las metodologías descriptas en el Capítulo 3 en los dos periodos de muestreo que se mencionaron.

Los valores obtenidos para la determinación de arsénico total de las muestras se presentan en la Figura 4.3. Se puede observar en el gráfico que sólo cinco de las muestras analizadas (13,5 %) son aptas para consumo humano según las recomendaciones de la OMS. Además, se encontró que el 62,2 % de las muestras superan el VMP establecido por la normativa nacional, de $20 \mu\text{g L}^{-1}$ (UNIT 833:2008, 2010), lo que confirma que en Canelones existen zonas con problemas de contaminación por arsénico en las aguas subterráneas, presuntamente de origen geogénico. Estos niveles de arsénico en el agua subterránea resaltan

la importancia de llevar a cabo una evaluación de riesgos para la salud de la población que consume esta agua, que se describe en el siguiente capítulo (Capítulo 5).

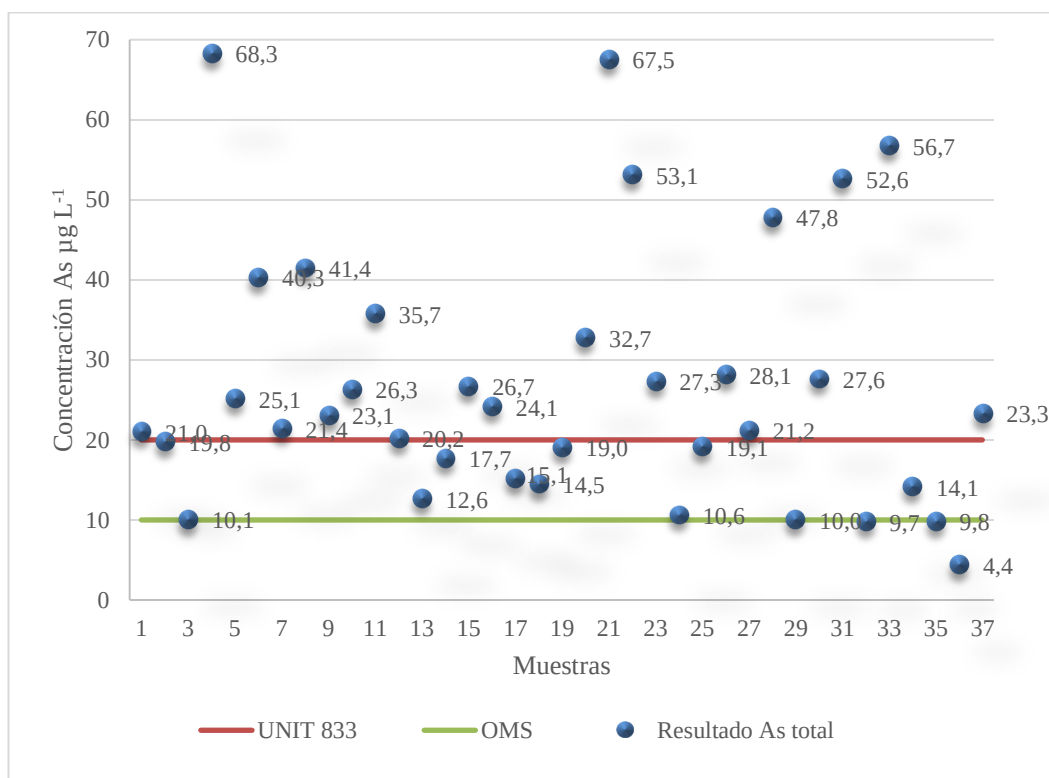


Figura 4.3 Resultados del análisis de muestras de agua subterránea en Canelones en 2021 mediante HG-MP-AES

Las muestras tomadas en dos ocasiones del mismo pozo mostraron resultados variables. Por un lado, la muestra M04 presentó un valor inicial de 68,3 $\mu\text{g L}^{-1}$ y en una segunda etapa (muestra 1 en rojo, M33 en el gráfico) el valor fue de 56,7 $\mu\text{g L}^{-1}$, siendo bastante similares ambos valores. Sin embargo, en el caso de la muestra M16, dio 24,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ en su primer muestreo y 14,1 en el segundo (muestra 2 en rojo, M34), teniendo en el segundo caso una marcada disminución con respecto al primer muestreo. Dado que las primeras muestras fueron tomadas en verano y las segundas en invierno, los diferentes valores para arsénico en aguas de un mismo pozo podrían explicarse por una variación estacional. En esta ocasión no se consideraron las condiciones climáticas asociadas, cuya variable también podría incidir en la variabilidad de la concentración de arsénico en el agua subterránea. Es importante indicar que en el segundo muestreo la M16 pasó a tener valores aceptables para la Normativa Uruguay. Por último, la muestra M08 presentó un valor de 41,4 $\mu\text{g L}^{-1}$ en el primer muestreo

y en el segundo muestreo el valor fue de $53,1 \mu\text{g L}^{-1}$ (M22). En este caso ambas muestras fueron tomadas en verano, período en que las lluvias son más escasas. Esto nos muestra que la tendencia de las muestras se mantiene pero que existen variaciones en los resultados, por lo tanto, se podría decir que hay un dinamismo en las concentraciones de arsénico en el agua subterránea de algunos pozos.

La especiación analítica del arsénico se pudo realizar en 21 de las 37 muestras de Canelones, ya que algunas no cumplían con los requerimientos adecuados para esta determinación debido a la presencia de cámara de aire en el recipiente. Las 21 muestras se sometieron al análisis según la metodología 3.2.2.2. En la Tabla 4.3 puede verse los resultados de As(V) y As(III).

Tabla 4.3 Resultado de la especiación analítica en las muestras de Canelones del 2021

Muestra	Resultado As total ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Resultado As(V) ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Resultado As(III) ($\mu\text{g L}^{-1}$)
M1	$21,0 \pm 1,0$	$21,5 \pm 0,9$	ND
M2	$19,8 \pm 1,0$	$22,0 \pm 0,9$	ND
M3	$10,1 \pm 0,5$	$8,8 \pm 0,4$	ND
M4	$68,3 \pm 3,4$	$66,9 \pm 2,9$	ND
M5	$25,1 \pm 1,3$	$22,7 \pm 1,0$	$2,4 \pm 0,1$
M6	$40,3 \pm 2,0$	$34,9 \pm 1,5$	$5,4 \pm 0,3$
M7	$21,4 \pm 1,1$	$18,9 \pm 0,8$	$2,5 \pm 0,2$
M8	$41,4 \pm 2,1$	$33,9 \pm 1,5$	$7,5 \pm 0,5$
M9	$23,1 \pm 1,2$	$17,9 \pm 0,8$	$5,2 \pm 0,3$
M10	$26,3 \pm 1,3$	$23,6 \pm 1,0$	$2,7 \pm 0,2$
M11	$35,7 \pm 1,8$	$34,8 \pm 1,5$	ND
M12	$20,2 \pm 1,0$	$15,3 \pm 0,7$	$4,9 \pm 0,3$
M13	$12,6 \pm 0,6$	$10,9 \pm 0,5$	ND

Muestra	Resultado As total ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Resultado As(V) ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Resultado As(III) ($\mu\text{g L}^{-1}$)
M14	17,7 $\pm$ 0,9	14,1 $\pm$ 0,6	3,6 $\pm$ 0,2
M15	26,7 $\pm$ 1,3	20,9 $\pm$ 0,9	5,8 $\pm$ 0,4
M16	24,1 $\pm$ 1,2	17,4 $\pm$ 0,7	6,7 $\pm$ 0,4
M17	15,1 $\pm$ 0,8	8,2 $\pm$ 0,4	6,9 $\pm$ 0,4
M18	14,5 $\pm$ 0,7	9,4 $\pm$ 0,4	5,1 $\pm$ 0,3
M19	19,0 $\pm$ 1,0	14,2 $\pm$ 0,6	4,8 $\pm$ 0,3
M20	32,7 $\pm$ 1,6	25,8 $\pm$ 1,1	6,9 $\pm$ 0,4
M21	67,5 $\pm$ 3,4	63,8 $\pm$ 2,7	3,7 $\pm$ 0,2

En la mayoría de los casos, se observa que las muestras presentan como especie mayoritaria al As(V), en un nivel mayor al 80%. La presencia mayoritaria de As(V) es consistente con la bibliografía que muestra que las condiciones oxidativas del agua subterránea en países como Chile y Argentina favorecen que mayoritariamente haya arsénico en estado de oxidación +5 (Lillo, 2008; Bundschuh *et al.*, 2008 y RSA-CONICET, 2018). Además, trabajos anteriores realizados en nuestro país también muestran la misma tendencia (Machado, Bühl, & Mañay, 2019).

4.3 Colonia

Colonia es uno de los departamentos de Uruguay con mayor cantidad de localidades afectadas por la presencia de arsénico en las aguas subterráneas (Cabrera, 2021). En este departamento se trabajó en las localidades de San Pedro y Piedras de los Indios, situadas en torno a las cuencas de arroyo San Pedro y arroyo de la Caballada. Dichas localidades son contiguas entre sí y se encuentran a una distancia de aproximadamente 15 a 20 km de Colonia del Sacramento.

4.3.1 Muestreo

Como se mencionó anteriormente, la campaña de muestreo se realizó en las localidades de San Pedro y Piedras de los Indios ubicados al suroeste de Colonia, como muestra la Figura 4.4. En este caso se muestrearon aguas de pozos destinadas al uso humano y de uso agropecuario. La posibilidad de trabajar allí se dio mediante el contacto con el Ing. Agr. Pedro Sorhouet de la Cooperativa de San Pedro (CASSPE), quien llevaba adelante el proyecto “Más agua para el desarrollo rural” del Ministerio de Agricultura y Pesca (MGAP) (MGAP, 2019), orientado a mejorar el suministro y aprovechamiento del agua en esa región. Como parte de las actividades finales de dicho proyecto, se consideró necesario hacer una evaluación de la calidad del agua de los pozos de los vecinos beneficiarios del mismo. Con este propósito, se realizó un trabajo en conjunto con investigadores de la Facultad de Ciencias y la Facultad de Química, en el cual la autora de esta Tesis se encargó de la toma de muestras, la determinación de alcalinidad y la cuantificación de arsénico total y sus especies.

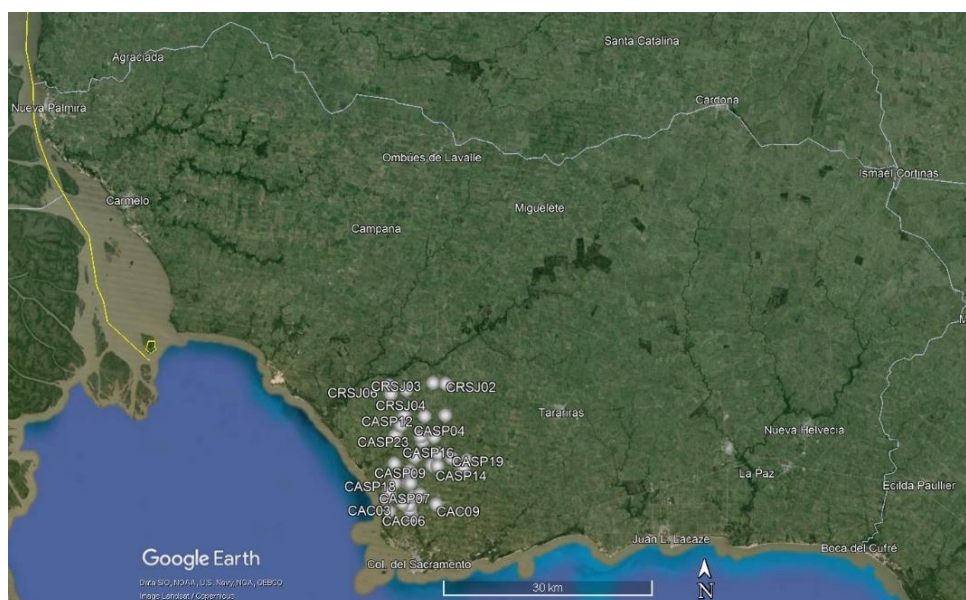


Figura 4.4 Zona de muestreo del departamento de Colonia

En la Figura 4.5 se observan claramente los puntos muestreados, que cubren una zona de trabajo aproximada de 150 km², en la cual se tomaron un total de 38 muestras. Dichas muestras fueron tomadas según el protocolo de muestreo descrito en el Apéndice 1. Esta etapa de muestreo se realizó durante dos días consecutivos, tras lo cual se procedió al análisis de las muestras.

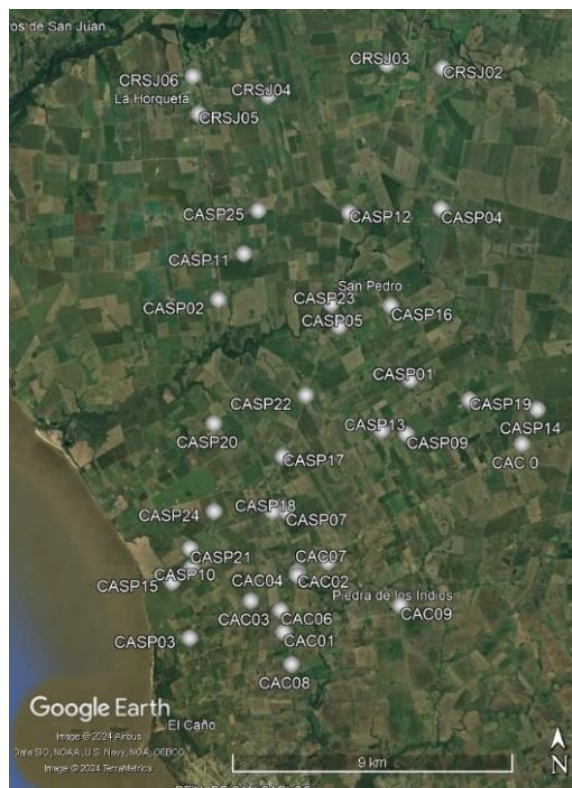


Figura 4.5 Localización geográfica de las muestras de agua subterránea tomada en el departamento de Colonia.

Además del muestreo, en los casos en que el agua era utilizada como agua de abastecimiento para el hogar, se realizó una encuesta que permitió saber si el agua era consumida por los participantes y de qué manera. La descripción de esta encuesta se encuentra en el Apéndice 2. Esto permitió evaluar si las personas estaban expuestas al arsénico a través del agua y realizar una evaluación de riesgo, cuyos datos se presentan en el siguiente capítulo.

4.3.2 Resultados y discusión de las determinaciones analíticas

Las muestras se analizaron mediante las metodologías descriptas en la subsección 3.2.1.2. Los valores de arsénico total en las muestras obtenidas en Colonia se muestran en la Figura 4.6. Estos valores superan en general el recomendado por la OMS. Además, los niveles de arsénico encontrados en algunas aguas son mayores al valor permitido en Uruguay de 20 $\mu\text{g L}^{-1}$.

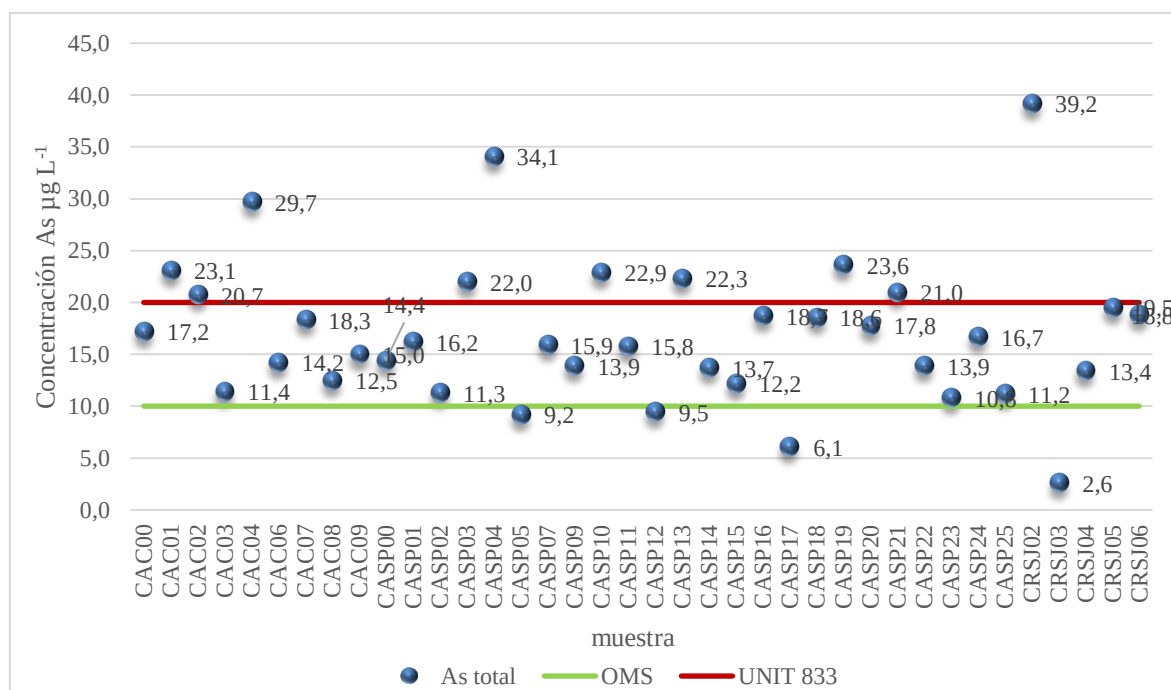


Figura 4.6 Resultados del análisis de muestras de agua subterránea en Colonia mediante HG-MP-AES

La mayor parte de las muestras estudiadas (65%) presentan valores entre 10 y 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ de arsénico, valores que son aceptables para la normativa nacional, pero son mayores que los recomendados por la OMS. En el próximo capítulo de evaluación de riesgo (Capítulo 5), se mostrará que esos niveles podrían representar un problema para la salud si las personas consumen estas aguas durante toda su vida. Según las recomendaciones de la OMS, sólo 4 de las 38 muestras de agua serían aptas para el consumo en cuanto a estos niveles de As determinados.

En estas muestras de Colonia, el valor más alto de arsénico fue de $39,2 \mu\text{g L}^{-1}$, lo que nos indica que, aunque los niveles de arsénico no son extremadamente altos en comparación con otros países por ejemplo para India (Shaji *et al.*, 2021) y para Argentina (Litter *et al.*, 2019), siguen siendo valores que superan lo recomendado. Esto pone de manifiesto nuevamente la necesidad de llevar a cabo una evaluación de riesgos para la salud de las personas expuestas que consumen esa agua.

Las muestras que superaron $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de arsénico fueron sometidas a la especiación analítica y los resultados se muestran en la Tabla 4.4

Tabla 4.4 Resultado de la especiación analítica en las muestras de Colonia

Muestra	Resultados As Total ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Resultado As(V) ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Resultado As(III) ($\mu\text{g L}^{-1}$)
CAC00	$17,2 \pm 0,9$	$14,0 \pm 0,6$	$3,2 \pm 0,2$
CAC01	$23,1 \pm 1,2$	$18,6 \pm 0,8$	$4,7 \pm 0,3$
CAC02	$20,7 \pm 1,0$	$17,4 \pm 0,7$	$3,3 \pm 0,2$
CAC03	$11,4 \pm 0,6$	$9,4 \pm 0,4$	ND
CAC04	$29,7 \pm 1,5$	$24,2 \pm 1$	$5,5 \pm 0,3$
CAC06	$14,2 \pm 0,7$	$12,4 \pm 0,5$	ND
CAC07	$18,3 \pm 0,9$	$14 \pm 0,6$	$4,3 \pm 0,3$
CAC08	$12,5 \pm 0,6$	$10,7 \pm 0,5$	ND
CAC09	$15,0 \pm 0,8$	$11,9 \pm 0,5$	$3,1 \pm 0,2$
CASP00	$14,4 \pm 0,7$	$11,3 \pm 0,5$	$3,1 \pm 0,2$
CASP01	$16,2 \pm 0,8$	$15,1 \pm 0,6$	ND
CASP02	$11,3 \pm 0,6$	$8,3 \pm 0,4$	$3,0 \pm 0,2$
CASP03	$22,0 \pm 1,1$	$17,6 \pm 0,8$	$4,4 \pm 0,3$
CASP04	$34,1 \pm 1,7$	$29,8 \pm 1,3$	$4,3 \pm 0,3$

Muestra	Resultados As Total ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Resultado As(V) ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Resultado As(III) ($\mu\text{g L}^{-1}$)
CASP05	9,2 $\pm$ 0,5		
CASP07	15,9 $\pm$ 0,8	12,9 $\pm$ 0,6	3,0 $\pm$ 0,2
CASP09	13,9 $\pm$ 0,7	10,7 $\pm$ 0,5	3,2 $\pm$ 0,2
CASP10	22,9 $\pm$ 1,1	18,6 $\pm$ 0,8	4,4 $\pm$ 0,3
CASP11	15,8 $\pm$ 0,8	13,5 $\pm$ 0,6	ND
CASP12	9,5 $\pm$ 0,5	8,15 $\pm$ 0,4	ND
CASP13	22,3 $\pm$ 1,1	18,3 $\pm$ 0,8	4,0 $\pm$ 0,2
CASP14	13,7 $\pm$ 0,7	11,4 $\pm$ 0,5	ND
CASP15	12,2 $\pm$ 0,6	10,2 $\pm$ 0,4	ND
CASP16	18,7 $\pm$ 0,9	16,5 $\pm$ 0,7	ND
CASP17	6,1 $\pm$ 0,30		
CASP18	18,6 $\pm$ 0,9	14,8 $\pm$ 0,6	3,8 $\pm$ 0,2
CASP19	23,6 $\pm$ 1,2	20,0 $\pm$ 0,9	3,6 $\pm$ 0,2
CASP20	17,8 $\pm$ 0,9	14,9 $\pm$ 0,6	2,9 $\pm$ 0,2
CASP21	21,0 $\pm$ 1,1	18,9 $\pm$ 0,8	ND
CASP22	13,9 $\pm$ 0,7	9,3 $\pm$ 0,4	4,6 $\pm$ 0,3
CASP23	10,8 $\pm$ 0,5	8,4 $\pm$ 0,4	2,4 $\pm$ 0,1
CASP24	16,7 $\pm$ 0,8	14,7 $\pm$ 0,6	ND
CASP25	11,2 $\pm$ 0,6	8,5 $\pm$ 0,4	2,7 $\pm$ 0,2
CRSJ02	39,2 $\pm$ 2,0	33,7 $\pm$ 1,4	5,6 $\pm$ 0,3
CRSJ03	2,6 $\pm$ 0,1		
CRSJ04	13,4 $\pm$ 0,7	10,4 $\pm$ 0,4	3,0 $\pm$ 0,2

Muestra	Resultados As Total ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Resultado As(V) ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Resultado As(III) ($\mu\text{g L}^{-1}$)
CRSJ05	$19,5 \pm 1,0$	$16,1 \pm 0,7$	$3,4 \pm 0,2$
CRSJ06	$18,8 \pm 0,9$	$16,8 \pm 0,7$	ND

En Colonia, los resultados de la especiación analítica del arsénico indicaron, al igual que en las aguas de los departamentos anteriores, que la mayor proporción se encontraba en forma de arsénico V. La observación de los diagramas de potencial sugiere que la predominancia de esta especie se alinea con los valores de pH y Eh encontrados en las muestras de agua. Los valores de pH, evaluados por otra estudiante que participó en el proyecto, oscilaron entre un mínimo de 6,91 y un máximo de 7,40, mientras que el potencial redox se situó entre 140,3 mV y 224,6 mV (Strambini, 2023).

4.4 Florida, Durazno, Montevideo, San José y Rivera

Las muestras obtenidas en estos departamentos provienen de otros proyectos de investigación donde el aporte de la autora de esta Tesis se centró en la cuantificación del arsénico y sus especies. En este caso no se tuvo acceso a los datos de georreferenciación de los pozos muestreados. De los departamentos de Florida y Durazno se analizaron 16 muestras de las localidades de Sarandí Grande y Carlos Reyles, de Montevideo se analizaron 24 muestras de agua de la localidad de Punta Espinillo, de San José 12 muestras del balneario Kiyú y del departamento del Rivera se analizaron 13 muestras de agua. En total, se analizaron 65 muestras.

4.4.1 Resultados y discusión de las determinaciones analíticas

Las muestras se analizaron mediante las metodologías descritas en la sección 3.2.1.2. Aunque los muestreos se realizaron en diferentes momentos, los resultados se agruparon para facilitar la organización de la información. Los resultados se muestran a continuación.

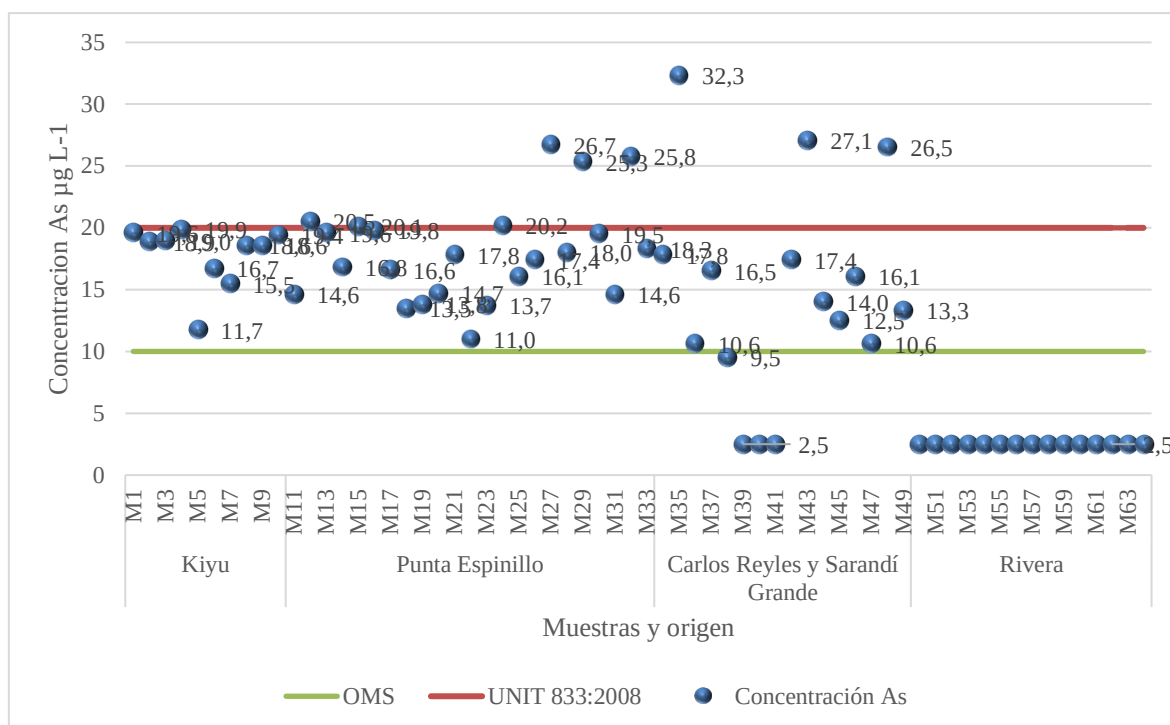


Figura 4.7 Resultados del análisis de muestras de agua subterránea diferentes localidades de San José, Montevideo, Florida, Durazno y Rivera mediante HG-MP-AES

Si analizamos el gráfico se puede ver que los resultados graficados para las muestras estudiadas en Rivera señalan todas un valor de $2,5 \mu\text{g L}^{-1}$. Esto es debido a que las muestras presentaron valores no cuantificables, pero para cuestiones prácticas se les asignó el valor del LOQ de la metodología trabajada. En el resto de los departamentos se ve que, al igual que en el caso de Colonia, las muestras presentan en su gran mayoría valores de arsénico entre 10 y $20 \mu\text{g L}^{-1}$.

En algunas de estas muestras se realizó la especiación de arsénico inorgánico, cuyos resultados se presentan a continuación en la Tabla 4.5.

Tabla 4.5 Tabla de resultados de especiación analítica en las muestras de Florida, Montevideo y San José

Procedencia	Nombre	Resultados As Total ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Resultado As(V) ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Resultado As(III) ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Kiyu	M1	$19,6 \pm 1$	$17 \pm 0,7$	$2,6 \pm 0,2$
	M2	$18,9 \pm 0,9$	$16,9 \pm 0,7$	ND
	M3	$19,0 \pm 0,9$	$16,5 \pm 0,7$	$2,5 \pm 0,2$
	M4	$19,9 \pm 1,0$	$17,6 \pm 0,8$	ND
	M5	$11,7 \pm 0,6$	$10,3 \pm 0,4$	ND
	M6	$16,7 \pm 0,8$	$14,9 \pm 0,6$	ND
	M7	$15,5 \pm 0,8$	$13,1 \pm 0,6$	ND
	M8	$18,6 \pm 0,9$	$16,8 \pm 0,7$	ND
	M9	$18,6 \pm 0,9$	$2,6 \pm 0,1$	$16,0 \pm 1,0$
Carlos Reyles y Sarandí Grande	M34	$17,8 \pm 0,9$	$17,2 \pm 0,7$	ND
	M35	$32,3 \pm 1,6$	$30,8 \pm 1,3$	ND
	M37	$16,5 \pm 0,8$	$16,9 \pm 0,7$	ND
	M42	$17,4 \pm 0,9$	$16,9 \pm 0,7$	ND
	M43	$27,1 \pm 1,4$	$25,6 \pm 1,1$	ND
	M44	$14,0 \pm 0,7$	$12,8 \pm 0,6$	ND
	M45	$12,5 \pm 0,6$	$11,6 \pm 0,5$	ND
	M46	$16,1 \pm 0,8$	$15,1 \pm 0,6$	ND
	M48	$26,5 \pm 1,3$	$24,3 \pm 1,0$	ND
	M49	$13,3 \pm 0,7$	$12,4 \pm 0,5$	ND

En este grupo de muestras, sólo una tuvo como especie mayoritaria al As(III). Para esta muestra en particular no se nos proporcionaron otros parámetros relevantes, y únicamente se sabe que fue tomada durante la construcción del pozo.

4.5 Conclusiones parciales sobre las determinaciones analíticas de las muestras de agua subterráneas

- Se pudo determinar el nivel de arsénico en aguas subterránea de diferentes lugares del país, constatándose la presencia de este contaminante en valores que superan las recomendaciones de la OMS en un 80 % de las muestras estudiadas.
- El conocer las especies de arsénico en las muestras de agua permite caracterizar las aguas subterráneas con respecto a su toxicidad. Asimismo, este conocimiento es importante para implementar procesos de remediación eficaces. En condiciones de pH ambiental, como se mencionó anteriormente, el As(V) se encuentra como anión, mientras que el As(III) se presenta en su forma neutra (Figura 3.12). Esta diferencia dificulta la eliminación del As(III) mediante técnicas como la adsorción o la ósmosis inversa (Biswas *et al.*, 2014), donde solo el 70% del arsénico III puede ser removido.
- Los resultados parciales presentados en este capítulo muestran la necesidad de monitorear de manera continua la calidad del agua subterránea, dados los niveles de arsénico encontrados. Estos niveles, en algunos casos, varían según la época del año, lo que ameritaría un estudio más profundo al respecto que incluya, por ejemplo, variaciones estacionales y clima asociado. Se encontró que hay poblaciones, como en el caso de Colonia, que consumen las aguas de sus pozos, y que la mayoría de las muestras contienen arsénico V en su forma mayoritaria, aunque algunas también presentan arsénico III. Por lo tanto, el conocer las especies de arsénico es importante desde el punto de vista de la toxicidad de las aguas y para posibles procesos de remediación.

Capítulo 5. Evaluación de riesgos a la salud por exposición a arsénico inorgánico a través del consumo de agua subterránea

En este capítulo se describe la metodología para realizar la evaluación de riesgos a la salud por exposición al arsénico. Asimismo, se detallarán los resultados del análisis de los niveles de arsénico en las aguas de pozo y su relación con los riesgos a la salud.

El método de evaluación de riesgos a la salud por exposición a sustancias químicas es una herramienta para la toma de decisiones, la cual estima el nivel potencial de riesgos por el contacto con una sustancia química presente en el ambiente. El resultado del análisis de riesgos puede indicar una situación potencialmente problemática o no, según las condiciones analizadas, y que requeriría un análisis posterior de mayor profundidad para establecer efectivamente la gravedad de la situación (SESA, 2016; USEPA, 2022). Consiste en un proceso de cuatro etapas como se muestran en Figura 5.1.



Figura 5.1 Etapas de la evaluación de riesgo a la salud. Adaptado de USEPA, 2022.

En el siguiente apartado se describe la metodología para realizar la evaluación de riesgos a la salud por exposición al arsénico.

5.1. Metodología para la evaluación de riesgos a la salud por exposición a arsénico a través del consumo de agua

Realizar una evaluación de riesgos a la salud por exposición a sustancias químicas comienza con la formulación del problema para posteriormente realizar las cuatro etapas que la componen, como se describe en “Herramienta de evaluación de riesgos para la salud humana de la OMS: peligros químicos” (OMS, 2017, OMS, 2021):

- identificación del peligro,
- caracterización de la dosis – respuesta,
- evaluación de la exposición
- y por último la caracterización del riesgo.

En este caso el problema es la presencia de arsénico geogénico en las aguas subterráneas que son utilizadas como agua de bebida por la población rural.

5.1.1. Identificación del peligro

Si se habla particularmente de cada una de las etapas, la identificación del peligro implica, identificar la o las sustancias capaces de generar efectos adversos a la salud en un escenario concreto de exposición y caracterizar la naturaleza de los peligros (OMS, 2017). También, en esta etapa, se debe evaluar la fuente, la ruta por la que se da la exposición y la población que está afectada.

Los productos químicos se caracterizan según sus peligros para la salud humana, en sustancias con efectos neurológicos, reproductores, respiratorios, cardiovasculares u cancerígenos, entre otros (SESA, 2016; OMS, 2017).

En este trabajo, esta etapa presentó una parte previa al desarrollo de la investigación que consistió en una búsqueda bibliográfica. Allí se encontró que regiones cercanas al país (Bundschuh *et al*, 2008) y algunas zonas en nuestro país, como describen Mañay *et al*. (2013), Machado *et al.*, (2019) y Manganelli *et al.*, (2007) presentan la problemática del arsénico geogénico en el ambiente (OMS, 2022). Luego al ir desarrollando los objetivos, se

confirmó mediante el análisis químico de agua subterráneas la presencia de arsénico (USEPA, 1989). Según la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA por sus siglas en inglés *Environmental Protection Agency*) la mejor manera de realizar la identificación del peligro es el muestreo ambiental y el análisis químico posterior (USEPA, 1989). Los valores del monitoreo ambiental de arsénico en agua se describieron anteriormente en el Capítulo 4, agrupados por departamento en estudio.

Por último, como parte de la primera etapa y luego de identificar al arsénico como la sustancia de interés, debemos mencionar los peligros inherentes al mismo. Como se mencionó en la introducción, el arsénico es clasificado en el Grupo 1 como comprobado cancerígeno para humanos según la IARC (IARC, 2024). Además, presenta efectos dermatológicos, neurológicos, cardiovasculares entre muchos otros (OMS, 2022).

Al pasar a las siguientes etapas en la evaluación de riesgos, es importante aclarar que la etapa de caracterización de la dosis – respuesta y la etapa de evaluación de la exposición pueden realizarse de manera simultánea o en un orden indistinto. Por un orden en la escritura, a continuación, se explica la caracterización de la relación dosis – respuesta.

5.1.2. Caracterización de la relación dosis – respuesta

La etapa de caracterización de la relación dosis – respuesta o caracterización del peligro implica la búsqueda de información sobre los umbrales de exposición en humanos o índices toxicológicos que se corresponden a las posibles vías de exposición según el tóxico y el medio donde se encuentre (OMS, 2017; SESA, 2016).

En el proceso práctico de evaluación de riesgos, esta etapa, involucra la identificación de valores orientativos y/o valores de referencia de la sustancia química que está en investigación, según la vía y la duración de la exposición. Como se mencionó anteriormente, en este caso, la sustancia química es el arsénico que está en el agua subterránea, siendo su principal vía de exposición la oral y la población general que habita en el medio rural y presuntamente expuesta es la que se vería afectada de manera crónica. Es muy importante mencionar que los valores orientativos serán diferentes si estamos considerando efectos

cancerígenos o no cancerígenos. Esto se debe a que la relación dosis-respuesta va a ser diferente si estamos frente a uno u otro efecto como muestra la Figura 5.2.

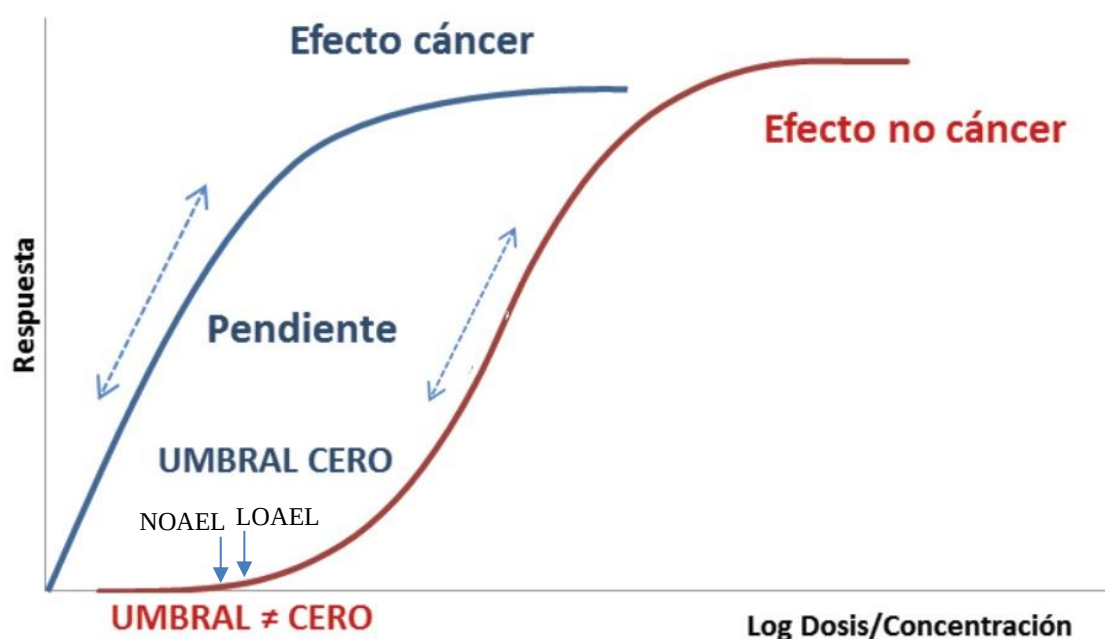


Figura 5.2 Relación dosis-respuesta para sustancias con efecto cáncer y sustancias con efecto no cáncer. Extraído de la Guía Metodológica de Evaluación de riesgo en Salud (SESA, 2016)

Las sustancias con efecto cancerígeno no presentan un nivel umbral; esto quiere decir que no hay una concentración debajo de la cual no se presenten efectos (USEPA, 1989; SESA, 2016). A diferencia de lo anterior, los efectos no cancerígenos presentan un valor umbral que suele caracterizarse a través de la expresión de nivel sin efecto adverso observado (NOAEL por su sigla en inglés *No observed adverse effect level*) o, cuando no se conoce por el nivel más bajo con un efecto observable (LOAEL por su sigla en inglés *Lowest observed adverse effect level*) (USEPA, 1989).

Para los efectos cancerígenos, el factor de pendiente o potencia carcinogénica (SF por sus siglas en inglés *Slope Factor*) y la determinación del peso de la evidencia que lo acompaña son los datos de toxicidad más comúnmente utilizados para evaluar los riesgos potenciales de cáncer en humanos, mientras que para los efectos no cancerígenos se utiliza la dosis de referencia (RfD por sus siglas en inglés *Reference Dose*). Es importante mencionar que la RfD se calcula teniendo en cuenta la incertidumbre que resulta de la calidad de los datos de

los estudios científicos y de la extrapolación de los datos experimentales a los seres humanos, debido a la variabilidad interespecie e interindividual.

Los valores de SF y RfD se muestran en la en la Tabla 5.1, donde además se puede observar el NOAEL y LOAEL (IRIS, 1998; USEPA & IRIS, 2002) así como el factor de incertidumbre que son utilizados para el cálculo del RfD.

Tabla 5.1 Evaluación de efectos cáncer y no cáncer. Adaptado de (USEPA & IRIS, 2002)

Vía de exposición	Oral	Oral
Efecto Crítico	Hiperpigmentación, queratosis y complicaciones cardiovasculares	Cáncer de piel
Umbral experimental (mg/L/día)	NOAEL: 0,0008 LOAEL: 0,17	-
Factor de Incertidumbre	3	-
RfD (mg/L/día)	0,0003*	-
Factor de pendiente oral (SF) (mg/kg/día -1)	-	1,5**

* La confianza en el estudio elegido para estimar la RfD se considera media.

** El factor de pendiente es el resultado de la aplicación de un procedimiento de extrapolación de dosis bajas.

Estos valores orientativos sobre los principales efectos de la exposición al arsénico por vía oral serán utilizados posteriormente para la caracterización de los riesgos a la salud.

5.1.3. Evaluación de la exposición

En la evaluación de la exposición se busca determinar cómo una población entra en contacto con las sustancias químicas potencialmente peligrosas y establecer la frecuencia con la que se produce dicho contacto, para estimar la dosis. En otras palabras, se busca conocer la fuente del tóxico, por qué vía ingresa al ser humano, en qué medio se encuentra en el ambiente, durante cuánto tiempo se da la exposición y qué población es la afectada y a qué dosis estimada.

En nuestro caso se detalla en la Tabla 5.2 cada uno de los aspectos estudiados.

Tabla 5.2 Aspectos estudiados en la evaluación de la exposición

Aspecto	Descripción
Fuente del tóxico	Aguas subterráneas (arsénico inorgánico)
Vía de ingreso	Ingestión
Medio en el que se encuentra en el ambiente	Agua subterránea
Duración de la exposición	Ingestión crónica (a largo plazo)
Población afectada	Población rural que consume agua subterránea
Absorción gastrointestinal	95 % de absorción gastrointestinal
Absorción dérmica	0,5 % de absorción dérmica

En el caso del arsénico presente en las aguas subterráneas de manera natural, que mayoritariamente se encuentra como arsénico inorgánico, su principal vía de ingreso al organismo es la ingestión, con una absorción de un 95 % a nivel gastro intestinal (USEPA, 2004). A nivel dérmico, la absorción es tan baja (0,5%) (USEPA, 2004) que no se considerará para la caracterización de la exposición.

En esta investigación, la población afectada es la población que vive en el medio rural y cuya única fuente de agua es el agua subterránea.

En este escenario, para realizar la cuantificación de la exposición que se da por la ingesta, es importante conocer la concentración del contaminante en el agua de consumo, la tasa de ingesta y el período de exposición.

Para poder realizar la cuantificación de la exposición, primero debemos calcular la dosis de exposición estimada o la dosis diaria promedio (ADD, por su sigla en inglés *Average Daily Dose*). La fórmula para calcularla se describe en la siguiente ecuación:

$$ADD (mg/kg/dia) = \frac{C \times IR \times ED \times EF}{BW \times AT}$$

Donde:

- C corresponde a la concentración de arsénico en el agua subterránea expresada en mg L⁻¹.
- IR (*Intake Rate*) corresponde a la tasa de contacto y se estima que un adulto consume 2 L al día como se describe en las guía de la OMS de calidad de agua (WHO, 2017) y los documentos de *Office water policy of EPA* (USEPA, 2011).
- ED (*Exposure Duration*) es la duración de la exposición expresada en años.
- EF (*Exposure Factor*) la frecuencia de exposición expresadas en días al año respectivamente.
- BW (*Body Weight*) es la masa corporal expresada en kg. Se establece en 70 kg para adultos blancos según diferentes autores (USEPA, 1989; SESA, 2016; OMS, 2017).
- AT (*Average Time*) es el tiempo promedio o el período durante el cual se promedia la exposición expresada en días.

Cuando no hay datos conocidos, ED y EF se estiman. Para adultos, la ED se estima utilizando la expectativa de vida. En el caso de Uruguay, la expectativa de vida en 2019 es de 77,9 años, tanto para hombres como para mujeres (MIDES, 2019). Cuando la caracterización de riesgos se hace para bebés y niños, se separan en franjas etarias de 2 y 16 años respectivamente, y ese es el valor que se estima para la EF. Además, es importante indicar que, en caso de bebés y niños, la tasa de contacto también cambia y es de 0,89 L y 1,25 L respectivamente, valores estimados según los datos de “*Child-Specific Exposure Factors*

Handbook” (USEPA, 2008) donde se recomienda el valor de ingesta diaria de agua por día para jóvenes y niños.

Es de suma importancia mencionar que los valores de AT se calculan en forma diferente si se está frente a la caracterización de riesgos a la salud de efectos cancerígenos y efectos no cancerígenos. Como el arsénico inorgánico es una sustancia cancerígena (IARC, 2024), se debe realizar la caracterización para efectos cancerígenos y también para sus otros efectos como daños dermatológicos y problemas cardiovasculares. Si se evalúan efectos cancerígenos, el AT equivale a la expectativa de vida multiplicada por 365 días, dado que el efecto cáncer puede desarrollarse durante toda la vida. No obstante, si se evalúan efectos no cancerígenos, como los problemas dermatológicos, el AT es $ED \times 365$ días. Toda esta información se detalla más claramente en la Tabla 5.3.

Tabla 5.3 Parámetros utilizados para estimar la ingesta media diaria de arsénico y los riesgos para la salud asociados en poblaciones adultas y pediátricas (USEPA, 1989, 2008 & 2011)

		Unidad	Niños		Adultos
Parámetros			<2 años	2-16 años	>17 años
C	Concentración de arsénico en agua	mg L ⁻¹			
IR	Tasa de consumo de agua subterránea	L día ⁻¹	0,89	1,25	2,0
ED	Duración de la exposición	año	2	16	77,9
EF	Frecuencia de exposición	días/año	365	365	365
BW	Masa corporal	Kg	10	30	70
AT	Vida media				
	Efecto carcinogénico	días	28434	28434	28434
	77,9*365				
	Vida media				
ADAF	Efecto no Carcinogénico	días	730	5840	28434
	ED*365				
	Factor de ajuste dependiente de la edad	-	10	3	1

En algunos casos, datos como IR, ED y BW se recaban en encuestas orientadas realizadas a las personas a las cuales se les muestrearon sus pozos utilizados para consumo y los cálculos se realizan en base a esas respuestas específicas.

Al realizar esta evaluación de la exposición, se pueden considerar varios escenarios y seleccionar el más adecuado en función de la población en estudio. A veces, el cálculo de

ADD se realiza para diferentes franjas etarias, ya que toda la población es la afectada; otras veces se enfoca solo en adultos, porque en ellos se centró la investigación.

Luego de calculada la ADD se pasa a la etapa de caracterización de riesgos, que cuando se realiza de manera cuantitativa permite determinar numéricamente la probabilidad de que se produzca un efecto adverso en una población expuesta.

5.1.4. Caracterización de riesgos

La caracterización de riesgos es una combinación de la información cuantitativa de la exposición con información recabada en la etapa de evaluación de la dosis respuesta. Con el valor de la dosis diaria promedio (ADD), se puede realizar la caracterización de los riesgos.

5.1.4.1. Efectos cancerígenos

En el caso de los carcinógenos, los riesgos se estiman como la probabilidad incremental de que una persona desarrolle cáncer a lo largo de su vida debido a la exposición al arsénico. El cálculo se realiza según la siguiente ecuación:

$$CR = ADD \times SF$$

Donde:

- CR representa el riesgo de cáncer (*cancer risk*, por sus siglas en inglés).
- SF convierte las ingestas diarias estimadas promediadas a lo largo de toda una vida de exposición, en el riesgo incremental de que un individuo desarrolle cáncer.

La exposición a sustancias cancerígenas en etapas tempranas de la vida aumenta el riesgo de cáncer (USEPA, 2011). Por este motivo, se recomienda que se calculen SF específicos para cada etapa de la vida. En los casos en que los estudios científicos no permitan estimar este factor para cada grupo etario, ya que suelen estar basados solamente en adultos, se utiliza un factor de ajuste dependiente de la edad, conocido como ADAF (*Age Dependent Adjustment Factor*). El ADAF se describe para tres períodos de la vida, con valores asociados al aumento

del riesgo en cada franja etaria, como se muestra en la Tabla 5.3, según lo que se describe en USEPA (2011). Por lo tanto, la fórmula de cálculo de riesgos considerando las diferentes franjas etarias se describe a continuación:

$$CR = ADD \times SF \times ADAF$$

Para obtener el riesgo total, acumulado a lo largo de la vida, es necesario sumar los riesgos correspondientes a los tres períodos etarios. El riesgo se calcula para el período de tiempo que el investigador considere necesario evaluar, como se muestra en el trabajo de Abd Wahil, (2020).

Se considera un nivel de riesgo aceptable cuando los valores están por debajo de una probabilidad de un caso entre un millón (1×10^{-6}). Según Asante-Duah (2017) es necesario tomar medidas con los valores mayores a 1×10^{-4} (SESA, 2016), por lo que valores entre 10^{-4} y 10^{-6} se pueden considerar aceptables. Son las sociedades las que definen cuál es el riesgo aceptable para cada determinante evaluado. Para la OMS, el rango entre 1 en 10.000 y 1 en 1.000.000) se considera manejable, pero la decisión de tomar medidas dependerá de factores específicos, como la población expuesta o la posibilidad de reducir la exposición. Cuando el riesgo es mayor a 1 en 10,000 (1×10^{-4}), es decir, que más de una persona en 10.000 podría desarrollar cáncer debido a la exposición a arsénico, la OMS recomienda implementar medidas de control o mitigación. Un riesgo mayor a 1×10^{-4} implica un nivel inaceptable de exposición y las autoridades sanitarias recomiendan actuar para reducirlo (Asante-Duah, 2017; SESA, 2016).

5.1.4.2. Efectos no cancerígenos

En el caso de los efectos no cancerígenos, el cálculo de riesgo se realiza con la fórmula:

$$HQ = \frac{ADD}{RfD}$$

donde HQ (*Hazard Quotient*) es el coeficiente de peligro

En este caso, se estima, como se describió anteriormente, tomando como referencia la evaluación de riesgos no cancerígenos, específicamente los daños dermatológicos que pueden resultar de la exposición oral al arsénico a través del consumo de agua contaminada

La evaluación de riesgos para la salud se utiliza para determinar, en este caso, si la exposición al arsénico, en cualquier dosis, puede provocar un aumento en la incidencia de efectos adversos en la salud humana de una población crónicamente expuesta.

5.2. Resultados y discusión de la evaluación de riesgos a la salud por exposición a arsénico a través del consumo de agua

A continuación, se presentan los resultados de la evaluación de riesgos para las poblaciones agrupadas, al igual que en el Capítulo 4, según las zonas de estudio.

Los resultados que se muestran son específicamente de la evaluación de la exposición y de la caracterización de los riesgos. La identificación y caracterización del peligro quedaron descriptas en la metodología y se mantiene igual en todos los casos, siendo el problema central la presencia de arsénico en el agua subterránea utilizada para consumo humano.

5.2.1. Canelones¹²

La evaluación de riesgos se realiza en este caso estimando la duración de la exposición según diferentes franjas etarias. Se utilizaron duraciones de exposición (ED) de 2, 16 y 77,9 años, siendo el valor de 77,9 años basado en la expectativa de vida promedio en Uruguay para hombres y mujeres en 2019 (MIDES, 2019). Los valores de los parámetros para el cálculo de riesgo de cáncer (CR) y del coeficiente de peligro (HQ) se encuentran detallados en la Tabla 5.3.

¹² Trabajo presentado como seminario en el *Webinars Series of The International Medical Geology Association, 2021*

El CR para los adultos se calculó como la sumatoria de los CR para cada franja etaria. Los resultados se grafican en la Figura 5.3. Como se explicó al comienzo del capítulo, el cáncer es un efecto que puede manifestarse a lo largo de toda la vida; es decir que, aunque una persona se exponga en una etapa temprana de su vida, el riesgo persiste durante toda su existencia.

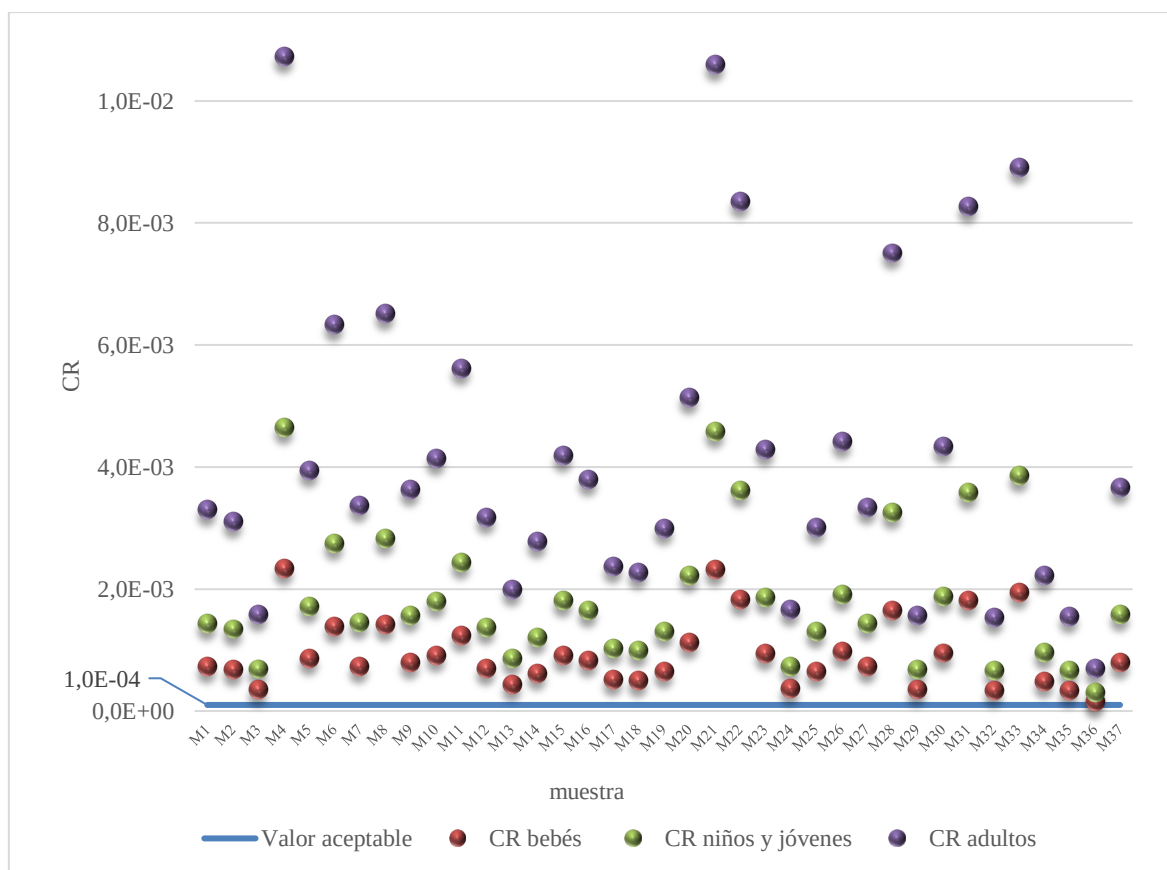


Figura 5.3 Valores de CR según las diferentes franjas etarias para los niveles de arsénico en muestras de agua subterránea extraídas en Canelones en el 2021

Los resultados de los cálculos para el CR muestran que, para ninguna de las franjas etarias, los niveles de arsénico presentes en las muestras de agua estudiadas en Canelones tienen un valor que pueda considerarse aceptable para las personas que consumen esas aguas.

Se destaca que el CR para adultos es mayor que para los otros grupos etarios, como es esperable dado que suma los CR para cada una de las etapas de la vida.

En suma, ninguno de los niveles de arsénico en las diferentes aguas analizadas lleva a un valor de CR que pueda considerarse aceptable para las personas que puedan consumir esa agua durante toda su vida. Se resalta que, si bien las muestras de agua M3, M35 y M36 presentan un valor de arsénico por debajo de lo recomendado por la OMS, el resultado obtenido al realizar la caracterización de riesgo nos revela que tampoco es aceptable consumir esas aguas. Esto puede atribuirse a que el valor de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de la OMS es un valor provisional; no se define teniendo en cuenta solamente cuestiones de salud, sino que también considera tanto las capacidades analíticas para su cuantificación como las posibilidades tecnológicas de remoción de arsénico (WHO, 2017). El valor que debería recomendar la OMS estrictamente según criterios de salud debería ser menor a $10 \mu\text{g L}^{-1}$ lo que, al menos a la fecha, sobrepasaría las capacidades analíticas de muchos países, así como las capacidades tecnológicas de removerlo de las aguas.

Los efectos a la salud de los seres humanos debido a la exposición a muy bajas dosis de arsénico en el agua consumida continúan en estudio, pero ya existen indicios de efectos adversos a la salud por debajo de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ (Ahmad & Bhattacharya, 2019). Países como Holanda buscan definir un nivel máximo permitido de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ debido a que han demostrado que los costos en salud son mayores que los costos de tratamiento del agua (Ahmad *et al* , 2020).

La EPA define también el nivel de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ como un valor provisional, siendo su objetivo reducir el arsénico en agua de consumo a $0 \mu\text{g L}^{-1}$ (USEPA, 2007).

En cuanto a los efectos no cancerígenos, estos se evalúan, como se mencionó anteriormente, estimando los valores de coeficiente de peligro (HQ). Los valores de HQ obtenidos para los niveles de arsénico en las aguas subterráneas de las muestras de Canelones calculados para cada grupo etario, bebés, niños, y adultos se muestran en la Figura 5.4.

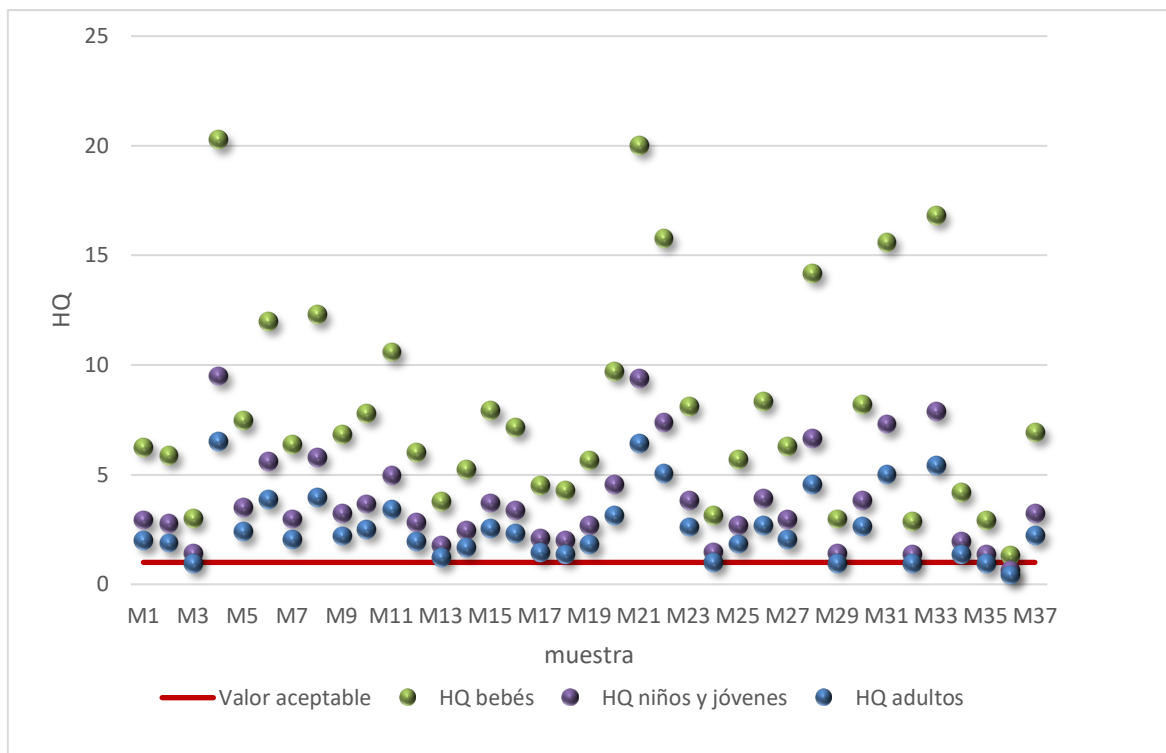


Figura 5.4 Valores de HQ según las diferentes franjas etarias para los niveles de arsénico en muestras de agua subterránea extraídas en Canelones en el 2021.

Al observar los resultados de HQ en adultos se destaca que solo seis muestras (M3, M24, M29, M32, M35, M36) presentan niveles de arsénico que permiten un consumo sanitariamente aceptable durante toda la vida, ya que están dentro de límites de HQ de bajo riesgo para efectos dermatológicos y cardiovasculares. Todas las otras muestras, mostraron riesgo en diferente proporción para personas que se expongan a esas concentraciones de arsénico a través del agua durante toda su vida.

Al evaluar las mismas muestras, M3, M24, M29, M32, M35, M36, pero para el grupo de niños y adolescentes, solo una muestra devuelve un valor aceptable para el grupo de adolescentes y ninguna muestra para los bebés. Esto se puede explicar dado que cuanto más pequeños son los niños el consumo de agua es mayor con relación a su masa corporal; según la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA por sus siglas en inglés, *European Food Safety Authority*) los bebés consumen entre 10 y 15% de su peso corporal en forma de agua, en comparación con el 2 al 4% en los adultos (EFSA, 2010). La EPA en el *Child-Specific Exposure Factors Handbook* estima que la media de ingestión de agua en bebés de

1 a 3 años es de 119 mL/kg/día, mientras que para jóvenes de 18 a 21 años de 13 mL/kg/día (USEPA, 2008). En consecuencia, en los primeros años de vida, hay una mayor exposición al tóxico cuando este está presente en el agua, lo que explica por qué es mayor el riesgo a la salud en los grupos más jóvenes.

5.2.2. Colonia¹³

La evaluación de riesgos se puede plantear en diferentes momentos y circunstancias. Para el caso de Colonia se mostrarán los resultados de la caracterización de riesgo sólo para la población adulta.

Al igual que para Canelones, si utilizamos los valores descritos en la Tabla 5.3, los niveles de arsénico presente en las muestras de agua estudiadas en Colonia tampoco son aceptables para que los adultos las consuman durante toda su vida, si se evalúan los efectos cancerígenos. Los valores de CR se encontraron entre un valor mínimo de $1,1 \text{ E}^{-04}$ para la muestra CRSJ03 y un valor máximo para la muestra CRSJ 02 de $1,7 \text{ E}^{-04}$. Los resultados completos pueden verse en la Figura 5.5.

¹³ Trabajo presentado como oral en el *The First International Student Conference on Medical Geology and Environmental Health: Latin America. 2021*

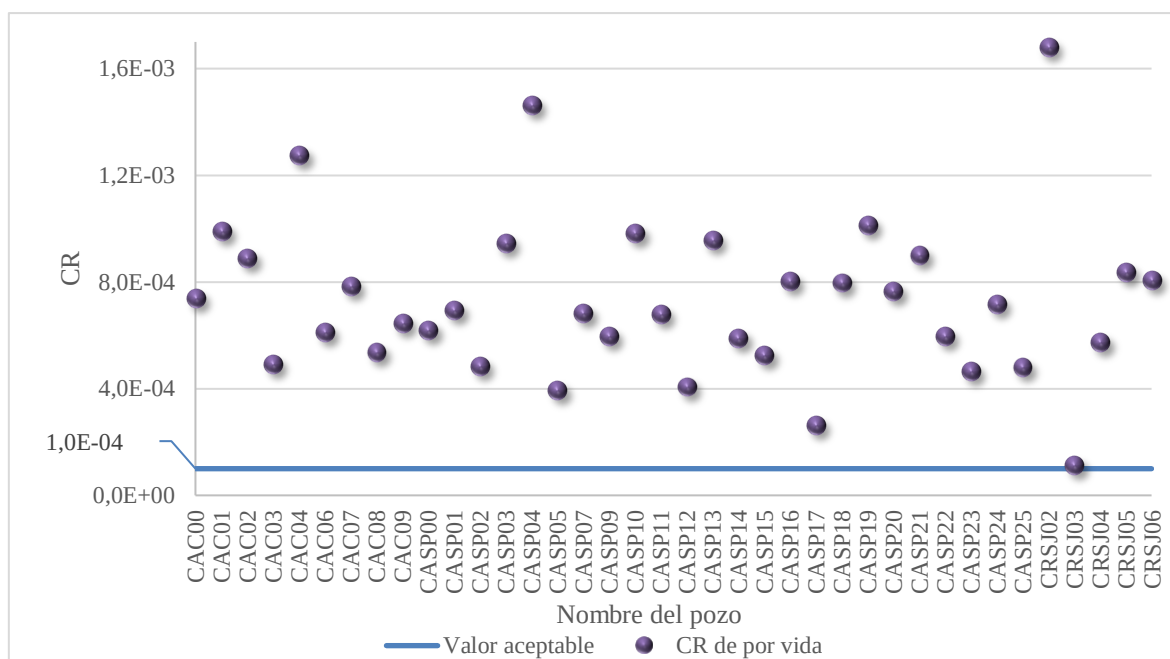


Figura 5.5 Valor de CR para adultos para los niveles de arsénico en muestras de agua subterránea extraídas en Colonia.

Asimismo, se evaluaron los riesgos de problemas no cancerígenos, el resultado del mismo puede verse en la Figura 5.6. Se llegó a la conclusión de que solo cuatro pozos presentan niveles de arsénico con valores aceptables antes los riesgos dermatológicos.

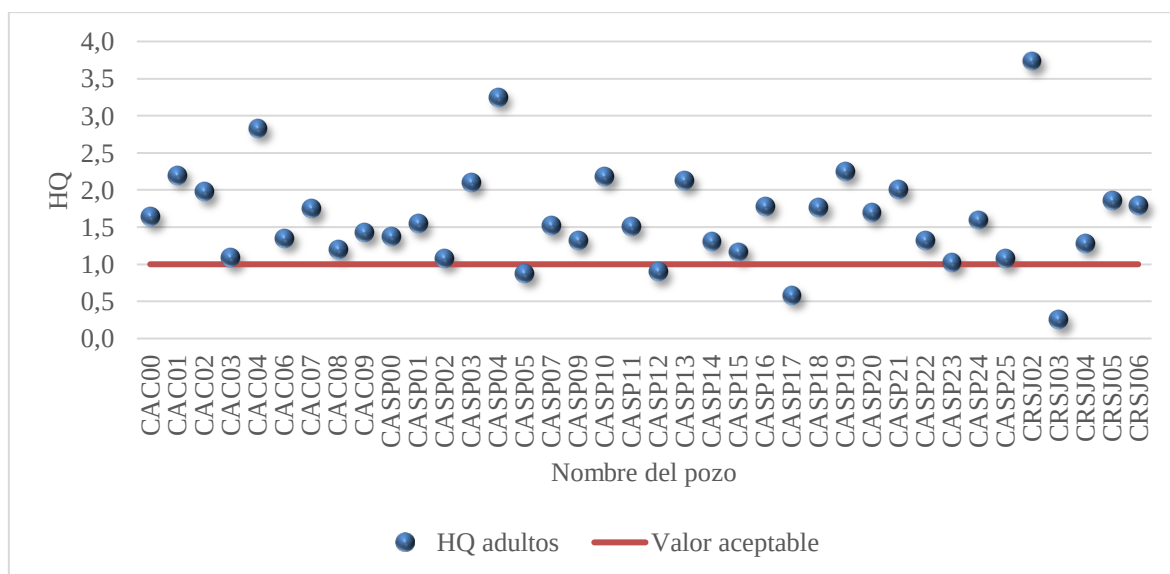


Figura 5.6 Valor de HQ para adultos para los niveles de arsénico en muestras de agua subterránea extraídas en Colonia

Resultados de la encuesta en Colonia

Como fue mencionado en el Capítulo 4, al momento de realizar la campaña de muestreo se realizó una pequeña encuesta orientada a las personas que abastecían el hogar con el agua subterránea con el fin de recabar información sobre los usos del agua. Se recolectaron datos personales y de consumo de 21 personas. Entre los resultados extraídos de la encuesta, se destaca el tiempo de residencia en el lugar, el tiempo de uso del agua de pozo para consumo y el consumo del agua ya sea como agua de bebida o en infusiones. Se les llama infusiones a bebidas como mate, té y café. En la Figura 5.7 se muestra los tiempos de residencia de las personas encuestadas. En el mismo se agrupa el porcentaje de personas según las diferentes franjas de años de residencia.

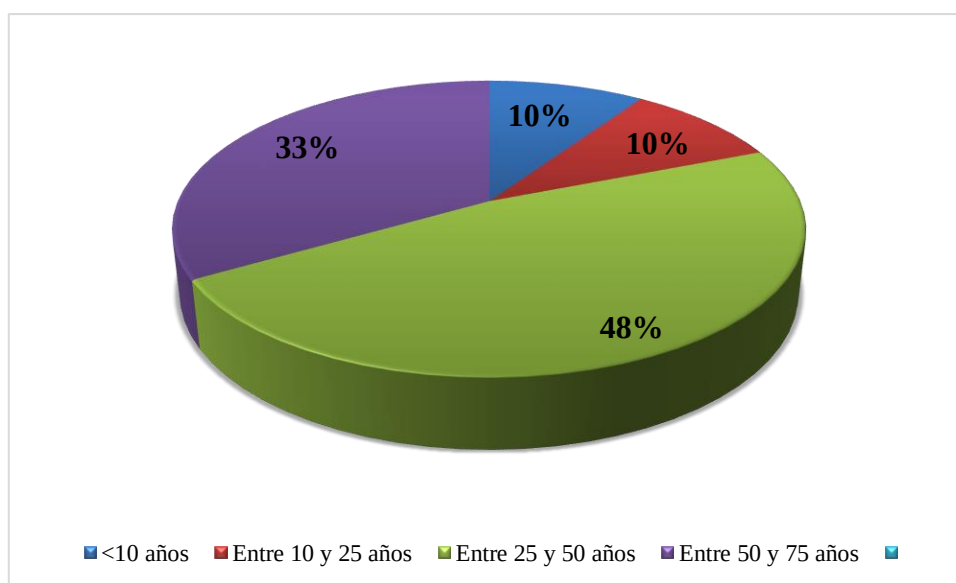


Figura 5.7 Porcentaje de participantes agrupados según el tiempo de residencia en el lugar donde se realizó la toma de muestra de agua

En la Figura 5.8 se observa cómo son los distintos usos del agua por parte de los encuestados.

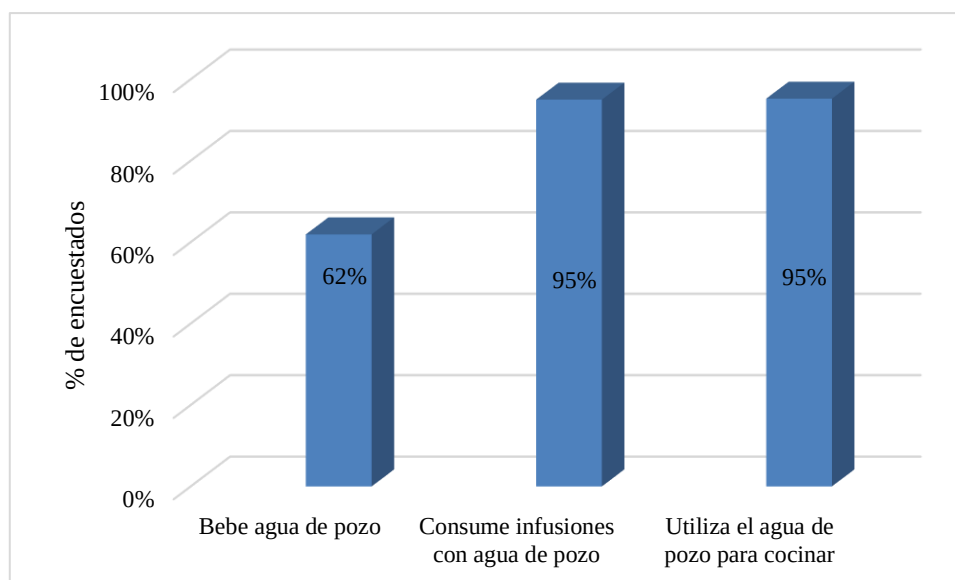


Figura 5.8 Consumo y usos del agua de pozos privados

Se observa que un altísimo porcentaje de los encuestados utiliza el agua subterránea para consumo personal. Aunque muchos indicaron consumir menos de 2 L de agua como bebida, el 95% de los consumidores de mate lo preparaba con agua subterránea.

5.3. Devolución de resultados a la comunidad

Al finalizar el trabajo, se realizó la entrega de informes a cada uno de los participantes y también se realizó una actividad de cierre donde se comunicaron los resultados a la comunidad de San Pedro. Además, en otras oportunidades se realizaron conversatorios con la comunidad que ha mostrado interés en el cuidado y la seguridad del agua subterránea, no solo que consumen, sino que también utilizan para sus actividades laborales (Figura 5.9 y Figura 5.10). Asimismo, se participó de una entrevista radial con el fin de promover el control para conocer la potabilidad del agua y entender por qué el arsénico está allí y qué riesgos implica a la salud.



Figura 5.9 Invitaciones para conversatorios comunitarios en San Pedro – Colonia.

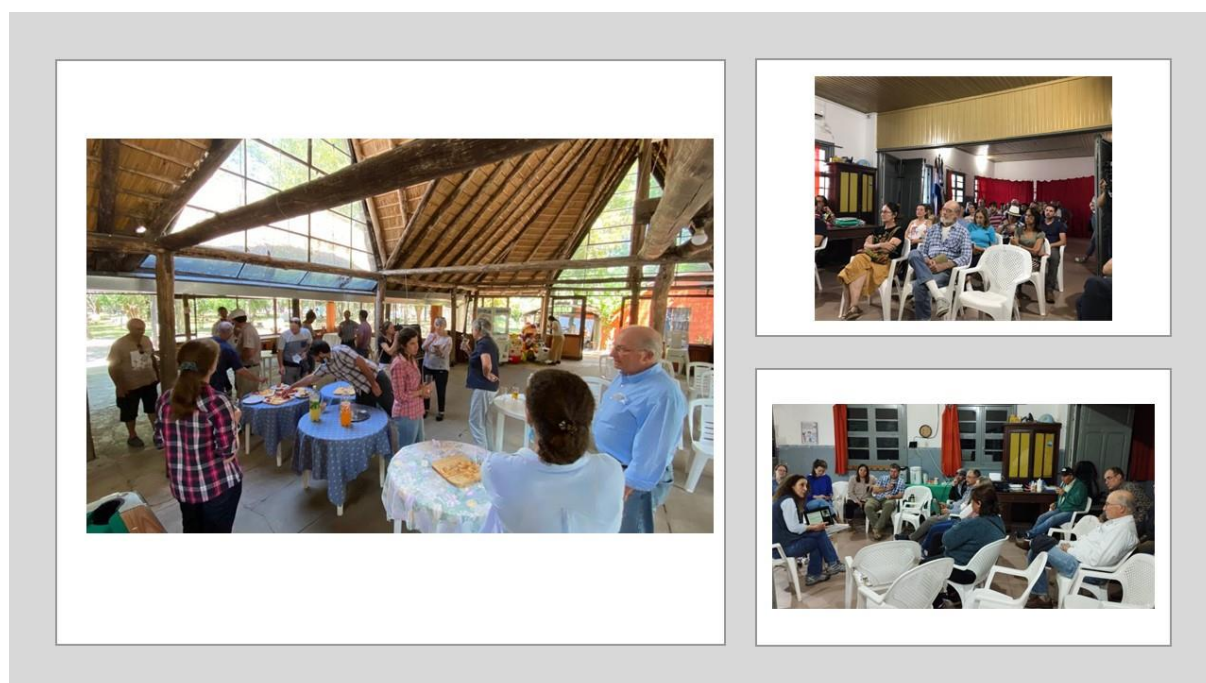


Figura 5.10 Imágenes tomada de las diferentes instancias de intercambio con la comunidad de San Pedro – Colonia.

5.4. Conclusiones parciales de la evaluación de riesgos a la salud

- Con los datos obtenidos de concentración de arsénico en el ambiente, específicamente en el agua subterránea, se pudo realizar una caracterización de los riesgos para las personas que consumen dicha agua.
- A pesar de que los niveles de arsénico en el agua subterránea no superan ampliamente la normativa nacional (UNIT 833:2008, 2010) se pudo estimar que si la personas consumen el agua subterránea por largos períodos presentan riesgos a la salud asociados a la exposición al arsénico. Estos riesgos pueden ser con efectos cancerígenos y/o problemas dermatológicos.
- Los resultados de la evaluación de riesgo por exposición al arsénico en las muestras de agua subterránea de Canelones y Colonia permiten realizar una comparación entre ambos departamentos, en función del CR (riesgo de cáncer) y del HQ (coeficiente de peligro no cancerígeno).
- En el caso de Canelones, el CR mostró valores superiores a los niveles considerados aceptables para todas las franjas etarias. Ninguna muestra de agua subterránea analizada en Canelones se consideró aceptable en términos de riesgo de cáncer para la población expuesta durante toda su vida en ninguna franja etaria.
- Por otro lado, en Colonia, también se encontraron riesgos significativos de cáncer asociados a la exposición al arsénico en los cálculos teóricos para todas las muestras.
- Respecto a los efectos no cancerígenos, en ambos departamentos se observó que el HQ teórico superaba el valor de 1 para la mayoría de los participantes, lo que muestra un riesgo significativo de efectos adversos no cancerígenos, como problemas dermatológicos o cardiovasculares. En Canelones, la evaluación mostró que prácticamente todos los participantes superaban este umbral en el cálculo teórico, mientras que, en Colonia, el HQ mostró que el 28 % de los participantes se encontraba en una situación más aceptable cuando se utilizaban datos reales de la encuesta.
- Realizar una encuesta en la población tiene la ventaja de lograr una visión más ajustada del impacto de la exposición al arsénico en la población estudiada.

Capítulo 6. Evaluación de exposición al arsénico a través del consumo de agua de pozos privados. Estudio descriptivo en la zona rural de San Antonio - Canelones

Este capítulo presenta la metodología de trabajo y los resultados obtenidos para el último objetivo general planteado en esta tesis, que consiste en implementar un estudio de evaluación de riesgos asociados a la presencia de arsénico en las aguas subterráneas de consumo humano, enfocado en la evaluación de la exposición al arsénico de la población consumidora. Previamente se definió la zona de trabajo la cual fue una zona rural del Municipio de San Antonio, Canelones.

El trabajo que se presenta a continuación fue previamente aprobado por el Comité de Ética de Facultad de Química en el año 2021 (Anexo 1).

6.1. Objetivos asociados

Los objetivos planteados para esta fase de la Tesis implican:

- evaluar los niveles de arsénico en el agua consumida en hogares del área rural de San Antonio,
- conocer los niveles de especies toxicológicamente relevantes en orina de los adultos que consumen esas aguas.
- vincular los niveles de arsénico en orina con los niveles de exposición ambiental de arsénico en agua, así como otras posibles fuentes,
- relevar la información de usos del agua y hábitos alimenticios a través de una encuesta orientada.
- realizar la evaluación físico-química de las aguas de los pozos muestreados; medir *in situ* parámetros como pH, potencial de óxido-reducción, conductividad eléctrica, resistividad, salinidad y sólidos disueltos y, en el laboratorio, realizar el análisis de cationes y aniones mayores, manganeso y flúor.

La investigación en esta etapa de la Tesis busca ahondar en la evaluación de riesgos a la salud, pero específicamente en su tercera etapa, que es la evaluación de la exposición al arsénico. Mediante la encuesta orientada se conoció el uso del agua subterránea, sobre todo si las personas la consumen para saber de qué manera la población se expone al arsénico y con qué frecuencia. También se sabrá si existen otras posibles fuentes dado que se preguntará sobre el consumo de alimentos. Además, se conocerá el nivel de arsénico en agua subterránea utilizada por la población en estudio, lo que permitirá evaluar los niveles del tóxico en el medio (monitoreo ambiental). Asimismo, a través de la determinación de los niveles de arsénico toxicológicamente relevante en orina, indicado como el mejor biomarcador de exposición para el arsénico inorgánico; cuyo resultado refleja exposiciones recientes y que está moderada a altamente correlacionados con la ingesta de arsénico del agua potable. Por lo antes mencionado, la determinación urinaria implica conocer y confirmar si fehacientemente la persona está expuesta (monitoreo biológico).

Por su parte, la evaluación de los parámetros físico-químicos y de los parámetros inorgánicos contribuirá a un mayor conocimiento para la clasificación y la calidad las aguas subterráneas en la zona de estudio, aunque el enfoque principal estará orientado hacia el arsénico y su especiación analítica.

6.2. Metodología

Se seleccionó el área de San Antonio, dada nuestra historia de trabajo allí (Pizzorno *et al.*, 2021) y la información de datos brindados por OSE que se refleja en el artículo periodístico de Cabrera (2021).

A los participantes se les explicó el propósito de la investigación, se les entregó una hoja informativa y si aceptaban participar, firmaban un consentimiento informado para la recolección de muestras de agua y orina como se describe en el Apéndice 7. También se realizó una encuesta orientada con el fin de cumplir los objetivos planteados para el estudio poblacional.

6.2.1. Muestreo

En esta sección se describe la selección de la población de estudio y el plan de muestreo para agua de pozo y de orina.

6.2.1.1 Selección de la población a estudiar

El municipio de San Antonio se ubica en la microrregión 2 en el departamento de Canelones, que aparece con color verde en la Figura 6.1. Presenta una superficie de 168,6 km² (IC, 2011).



Figura 6.1 Microrregiones con los municipios del Departamento de Canelones. Extraído de IC, 2010

Según los datos del Censo 2011, el municipio cuenta con una población de 3283 habitantes, de los cuales el 50,3 % vive en el área rural. La tasa de actividad es del 62,2 % y la tasa de desempleo es del 3,1 %. La proporción de personas en el municipio con al menos una necesidad básica insatisfecha es del 35,6 %, valor superior al promedio nacional (IC, 2011). Se destaca de la población de este municipio que más del 66 % de los habitantes han residido en el municipio durante toda su vida.

Cuando se indagó sobre la cantidad de pozos de abastecimiento de agua en San Antonio, se encontró que sólo hay un pozo registrado en el Municipio de San Antonio, según datos recabados en el Visualizador de mapas del Ministerio de Ambiente (Ministerio de Ambiente, 2022), como se observa en la Figura 6.2. Además, en dicha figura, se pueden ver los límites del departamento y los municipales, junto con la localización de los pozos registrados en todo el departamento de Canelones.

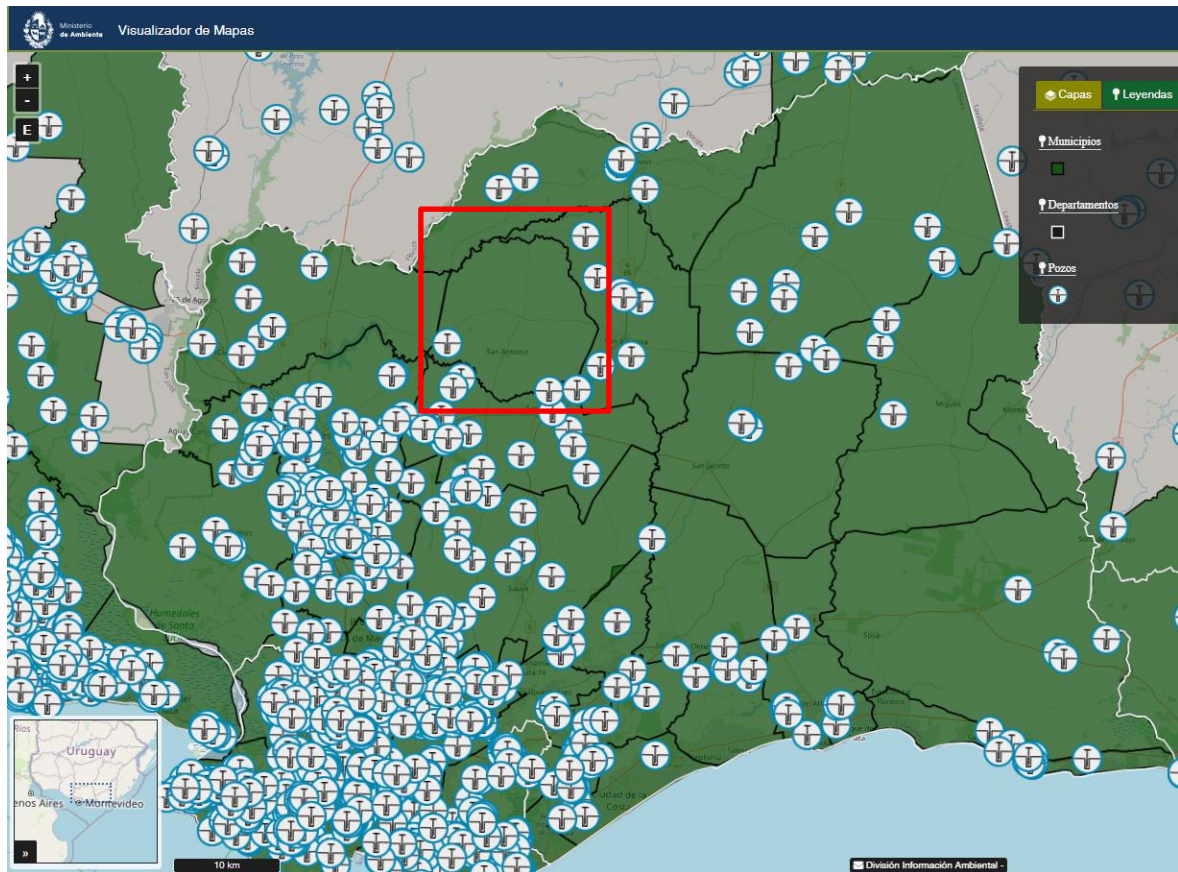


Figura 6.2 Pozos de agua registrados en el Departamento de Canelones. Imagen extraída del Visualizador de mapa del Ministerio del Ambiente (Ministerio de Ambiente, 2022).

Como se muestra en la Figura 6.2, los pozos se señalizan con la imagen de una perforación y hacen referencia a pozos para la extracción de agua; estos datos fueron actualizados por última vez en el año 2022 (Observatorio Ambiental Nacional, 2022).

Al no disponer de suficiente información sobre los pozos existentes en la localidad de San Antonio, se decidió utilizar la herramienta *Google Earth Pro* para identificar construcciones mediante inspección visual de los mapas, que podrían corresponder a viviendas con pozos

de extracción de agua. Dado que la superficie del municipio es muy extensa, y con la finalidad de hacer más accesible el muestreo, se decidió no trabajar en toda el área rural del municipio, sino que se trazó una circunferencia con un radio de 5 km en torno al pueblo, tomando como centro de la circunferencia la plaza principal de San Antonio. Se excluyó el centro poblado porque no consume agua de perforaciones propias, sino que cuentan con agua suministrada por OSE. Es importante mencionar que, además, hay zonas del municipio alejadas del centro poblado que no se vinculan con el pueblo de San Antonio o no se identifican con éste dado que presentan otros pueblos más cercanos.

En esta área delimitada, se identificaron en forma primaria construcciones que podían corresponder a una vivienda, asumiendo que cada vivienda podría tener al menos un pozo de extracción de agua. Se identificaron 312 construcciones y a cada una se le asignó un número. Esto se puede observar en la Figura 6.3, donde se ve lo que es cada elemento de la población en estudio. En color azul se muestra el límite del municipio; la circunferencia de color rojo corresponde al área de estudio y cada punto rojo es donde se visualizó una construcción que podía tener un pozo de extracción de agua.

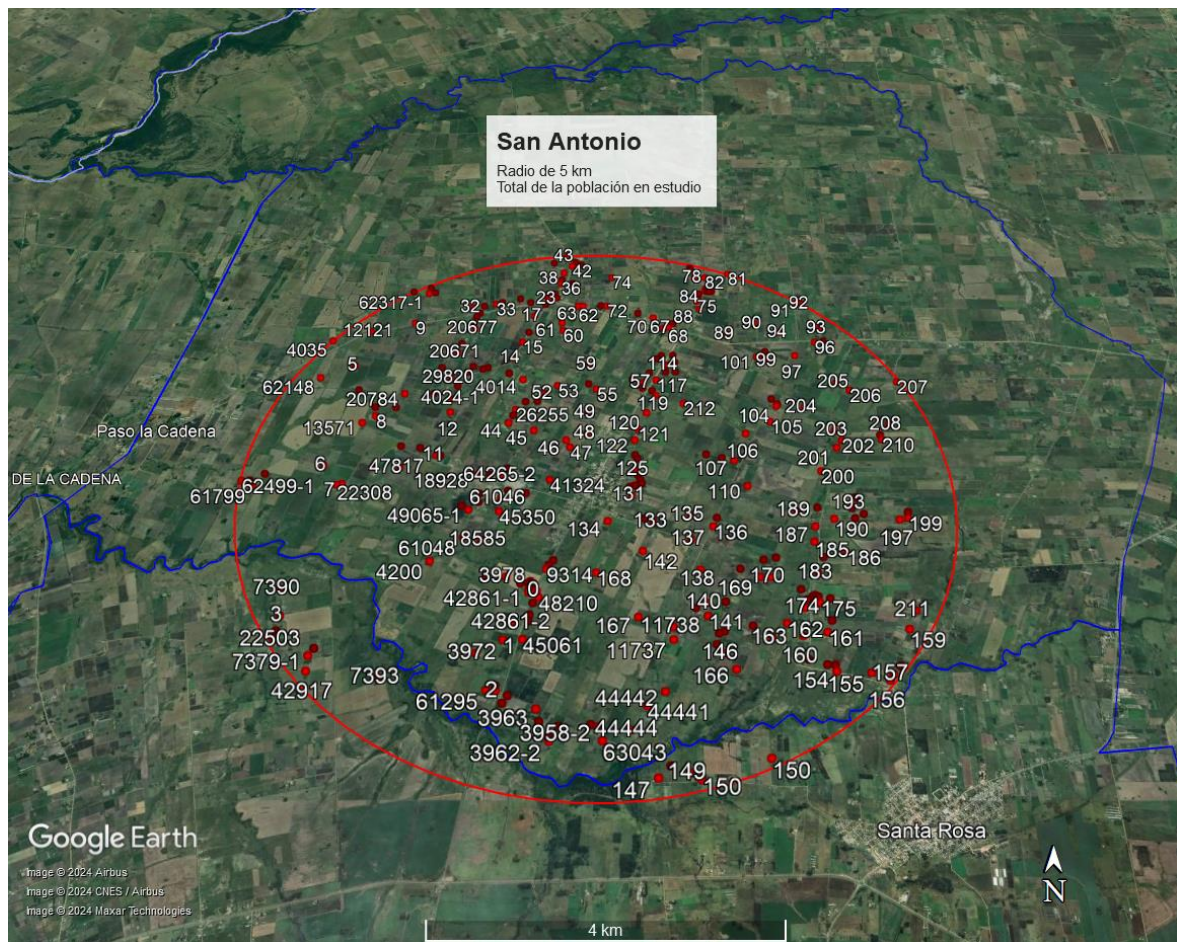


Figura 6.3 Área de estudio en el municipio de San Antonio. Realizado en Google Earth Pro.

Luego de este minucioso trabajo se procedió a realizar el muestreo. En este contexto, el muestreo se define como la técnica empleada para recoger una muestra representativa de una población según un método estadístico seleccionado como describe Álvarez Cáceres (2007), en Estadística Aplicada a las Ciencias de la Salud. El muestreo tiene la ventaja de ser más rápido, menos costoso y otorga viabilidad y mayor validez al estudio (Gómez & Sciuto, 2004).

En una primera instancia de muestreo, se formaron unidades muestrales, que son colecciones de elementos no solapados de la población, con varios elementos en ellas, lo que Gómez & Sciuto (2004) definen como “conglomerados”. Inicialmente, se seleccionaron conglomerados por su forma geométrica, hexágonos y diamantes para formar las diferentes grillas, los cuales se muestran en la Figura 6.4. Allí se puede observar que hay figuras que

tienen un solo elemento lo que lleva a perder aleatoriedad en una segunda etapa, en la selección de la muestra dentro de cada conglomerado.

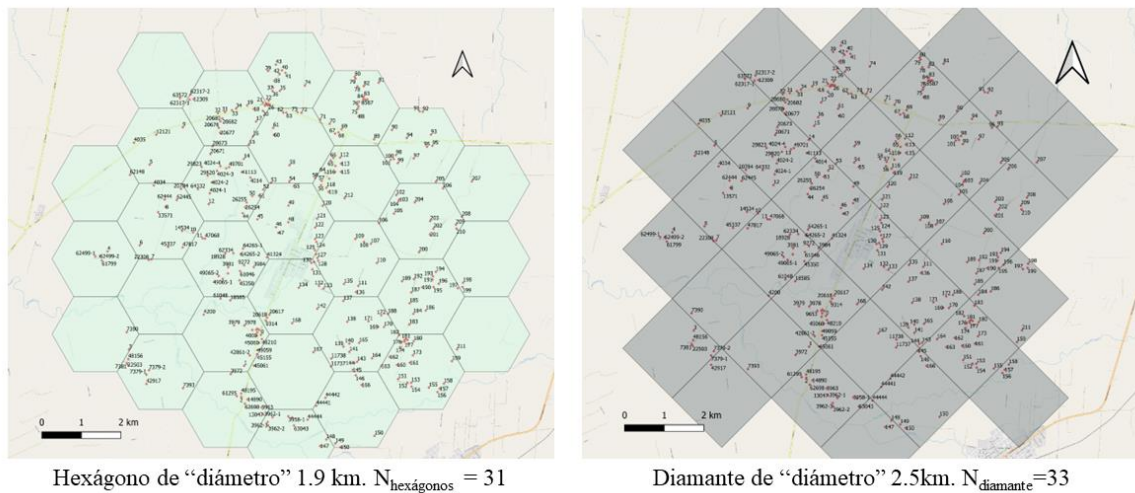


Figura 6.4 Grillas de muestreo según diferentes formas geométricas. Realizadas en Qgis.

Por lo antes mencionado, para armar los conglomerados se utilizó el método llamado *k-means* que se basa en armar grupos que sean lo más cercanos posibles, con puntos próximos sin una forma predeterminada (He & Zhang, 2018), a diferencia de las grillas geométricas. Esto evita la formación de conglomerados con un solo elemento. Según Pineda, (1994) la representatividad de la muestra depende tanto del tamaño muestral, como del sistema de muestreo utilizado. En esta Tesis, el muestreo realizado fue probabilístico en dos etapas:

- en la primera se formaron treinta conglomerados, de acuerdo con la cantidad de muestras que se definieron como posibles de evaluar;
- en una segunda etapa se realizó un muestreo aleatorio en cada uno de los conglomerados, donde se eligieron un primer elemento, un primer suplente y un segundo suplente.

En la Figura 6.5 se observan los elementos pintados de igual color cuando pertenecen al mismo conglomerado (imagen a), y en la imagen b los conglomerados con la selección para ser muestreados. Los puntos rojos corresponden a los elementos seleccionados, los puntos en naranja a los primeros suplentes, y los puntos en verde a los segundos suplentes.

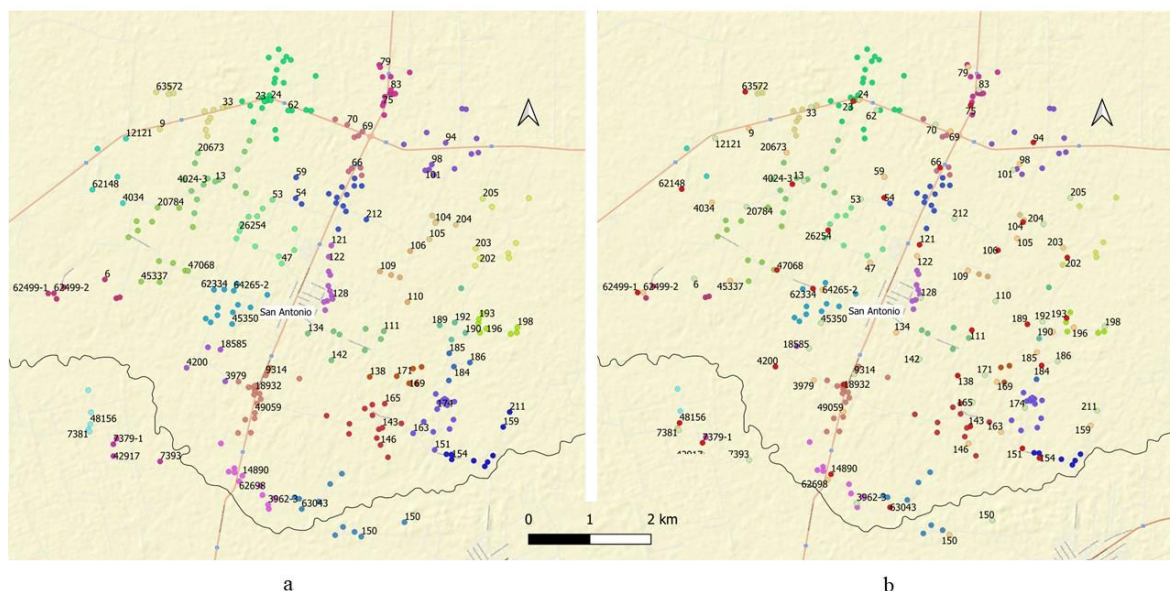


Figura 6.5 Muestreo en dos etapas: a) elementos conglomerados; b) elementos conglomerados más los seleccionados aleatoriamente para muestrear. Realizado en Qgis.

En el Apéndice 3 se muestra detalladamente el Plan de muestreo, que incluye la definición de los lugares de toma de muestra y sus suplentes, qué hacer cuando no se consume el agua de pozo o el agua que consume es de OSE o embotellada. Además, describe las muestras a tomar en cada lugar de estudio. En la siguiente subsección se presenta un resumen esquemático.

6.2.1.2 Recolección de muestras y datos

En la Figura 6.6 se muestra el esquema de trabajo que se llevó adelante para obtener las muestras de agua y orina y los datos recogidos a través de la encuesta a los participantes.

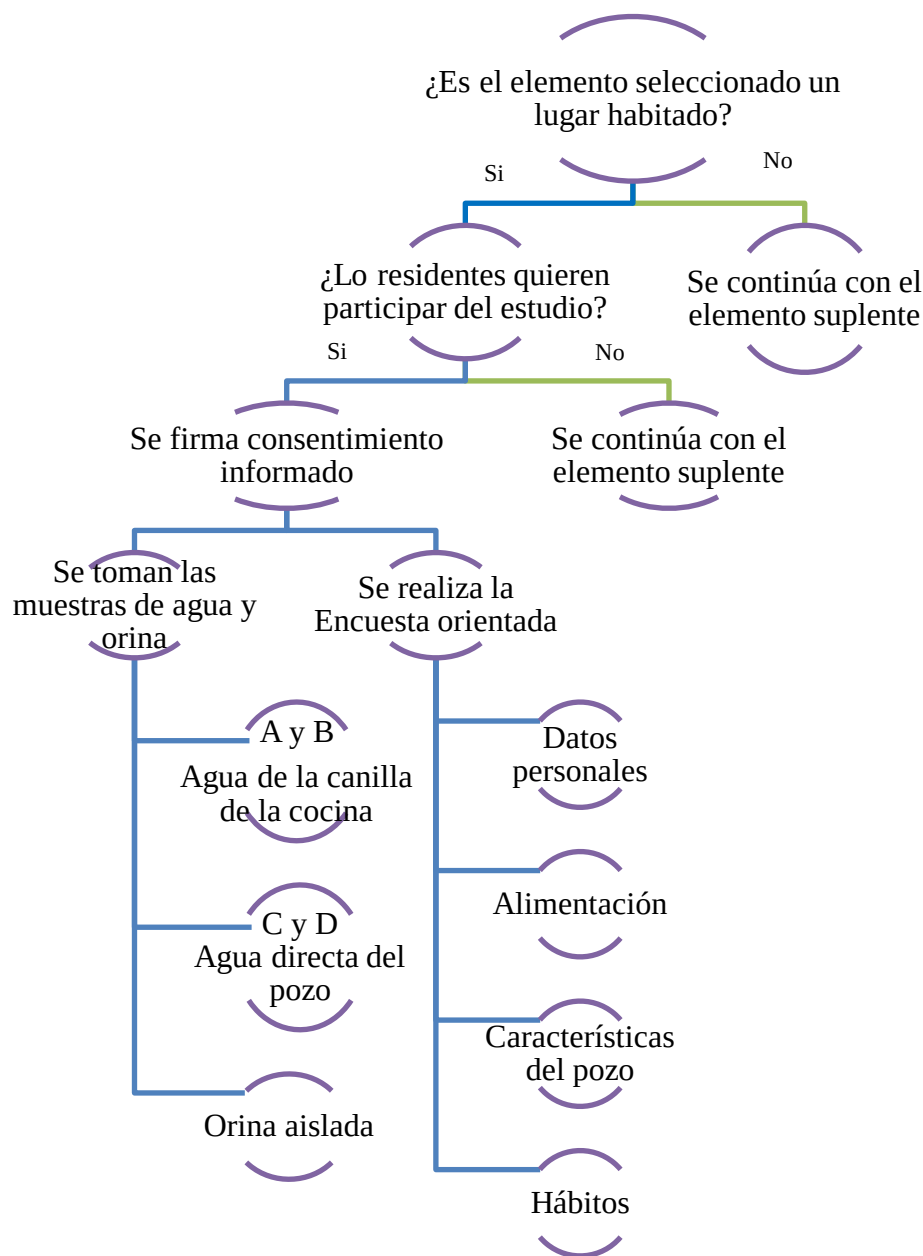


Figura 6.6 Esquema de trabajo para recolectar muestras de agua y orina y datos de los posibles participantes

Al acudir al lugar seleccionado, se le explicó a la persona o las personas presentes en qué consistía el proyecto de investigación, se le entregó una hoja informativa (Apéndice 6) y si estaban de acuerdo en participar se les pedía que firmaran un consentimiento informado (Apéndice 7). Luego se tomaron las muestras de agua y de orina.

En la Figura 6.7 se esquematiza la muestra y los datos a tomar durante el trabajo de campo.

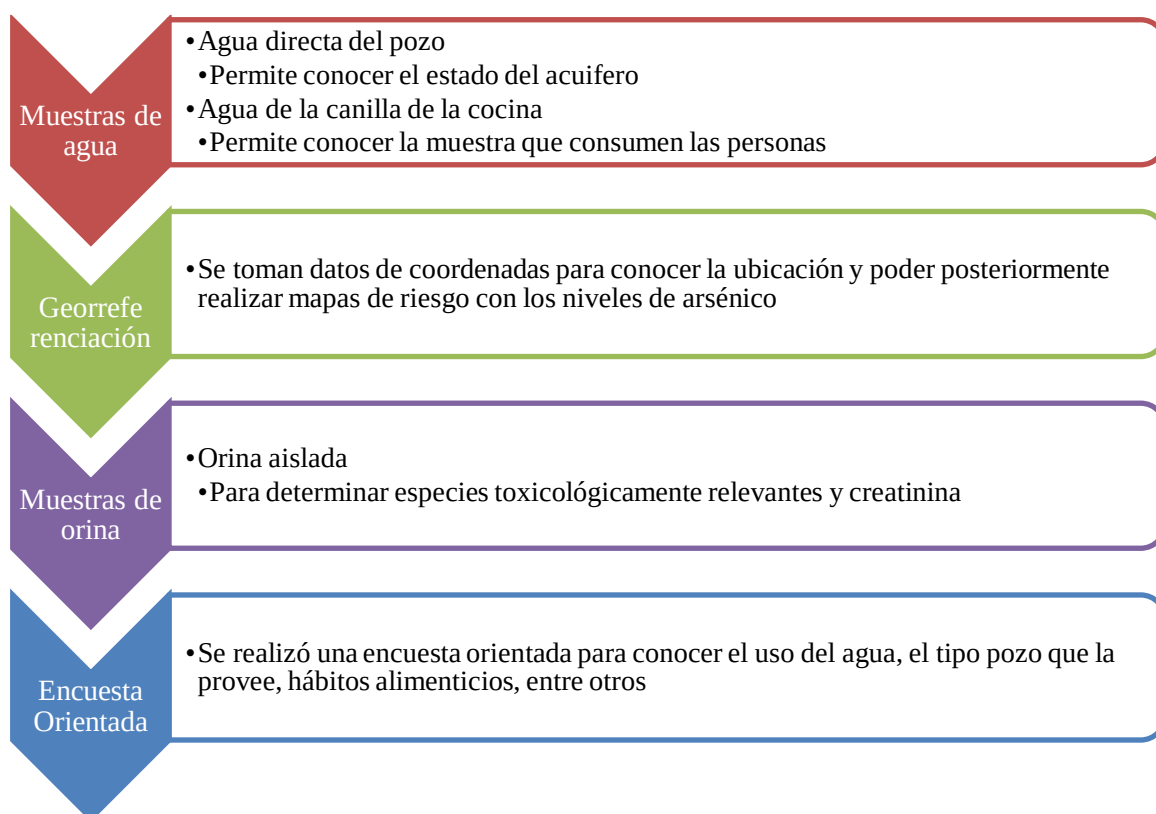


Figura 6.7 Descripción de las muestras y datos a tomar

La toma de las muestras de agua siguió el protocolo descrito en el Apéndice 1 y las muestras de orina siguieron el protocolo del Apéndice 4.

La encuesta realizada a la población se muestra en el Apéndice 8.

6.2.2. Determinaciones analíticas en agua y orina

En esta sección se detalla mediante qué análisis fueron determinados los diferentes parámetros en el agua y en la orina. En algunos casos, se midieron parámetros en campo y otros, en el laboratorio. Asimismo, algunos análisis fueron realizados con metodologías desarrolladas y validadas en esta Tesis, mientras que otros se llevaron a cabo utilizando metodologías de rutina del Área de Toxicología o del Área de Química Analítica de la Facultad de Química. Finalmente, también se incluyeron análisis realizados por otros investigadores con el objetivo de conocer las características del agua consumida por la población en estudio. La Figura 6.8 presenta las determinaciones analíticas realizadas.

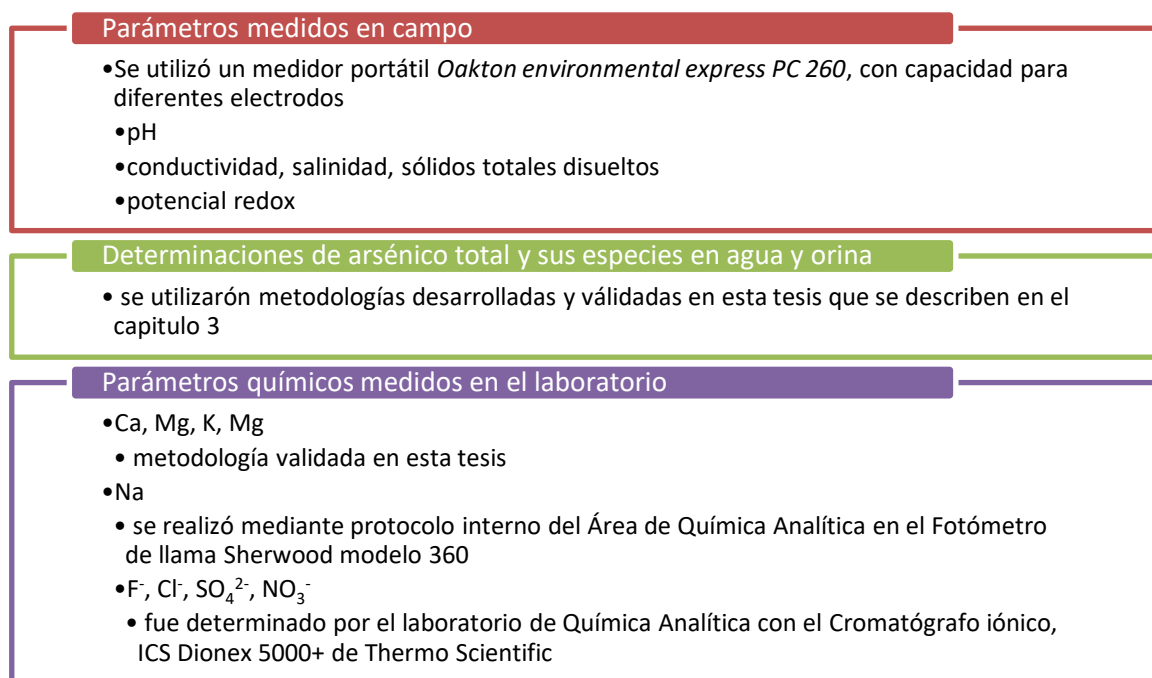


Figura 6.8 Determinaciones analíticas realizadas en las muestras obtenidas en San Antonio

6.2.3. Tratamiento de datos

Se correlacionaron los datos obtenidos a través de la encuesta con los niveles de arsénico en orina, expresados en $\mu\text{g/g}$ de creatinina. Asimismo, tomando los datos de consumo de agua, de tiempo de uso del pozo y el valor de arsénico en agua se calculó el índice de exposición según lo descrito en el Kit de herramientas de la OMS para la evaluación de riesgos que afectan a la salud humana: peligros químicos (OMS, 2021). Este índice de exposición se correlacionó con los niveles de arsénico toxicológicamente relevantes en la orina de cada participante. La población muestral fue de 47 personas y dado que las variables estudiadas no presentan una distribución normal, se utilizó la prueba de coeficiente de correlación de *Spearman*. El coeficiente de *Spearman* (ρ) es no paramétrico y se utiliza cuando no se alcanzan algunos supuestos de la estadística paramétrica como la normalidad o homocedasticidad.

Un valor de ρ igual a 1 significa que existe una correlación positiva perfecta, mientras que si un valor de ρ es igual a -1 hay una correlación negativa perfecta (Martínez *et al.*, 2009).

El valor de p (p -value) determina si la correlación entre las variables es significativa, en comparación con el nivel de significación, usualmente 0,05 (Molina Arias, 2017).

Los estadísticos anteriores, el coeficiente ρ y el valor p ($<0,05$) fueron evaluados utilizando el programa Anaconda 3 con el lenguaje Python 3.

6.2.4. Evaluación de riesgos a la salud por exposición al arsénico a través del consumo de agua subterránea

Con los datos obtenidos del monitoreo ambiental del agua, se realizó la evaluación de riesgos para la salud según la metodología que se describe en el apartado 5.1, utilizando, además, los datos de la encuesta.

6.3. Resultados y discusión

En este apartado se presentan los principales resultados obtenidos en el estudio realizado en el área rural en torno a la ciudad de San Antonio.

6.3.1. Muestreo

El trabajo de campo se realizó en un período de 6 meses aproximadamente, en el que se muestrearon 33 de los elementos que aparecen descritos en la *Figura 6.5 b*. Los sitios muestreados se pueden ver en la *Figura 6.9*. Es importante mencionar que, en algunos casos, se muestrearon otros sitios que no eran el elemento seleccionado o sus suplentes debido a que algunos lugares estaban sin agua o sin habitantes. Esta falta de agua se debió al hecho de que el país estaba atravesando una de las sequías más importantes de su historia (INUMET, 2024). Además, en un número reducido de casos, las personas no quisieron participar del estudio.

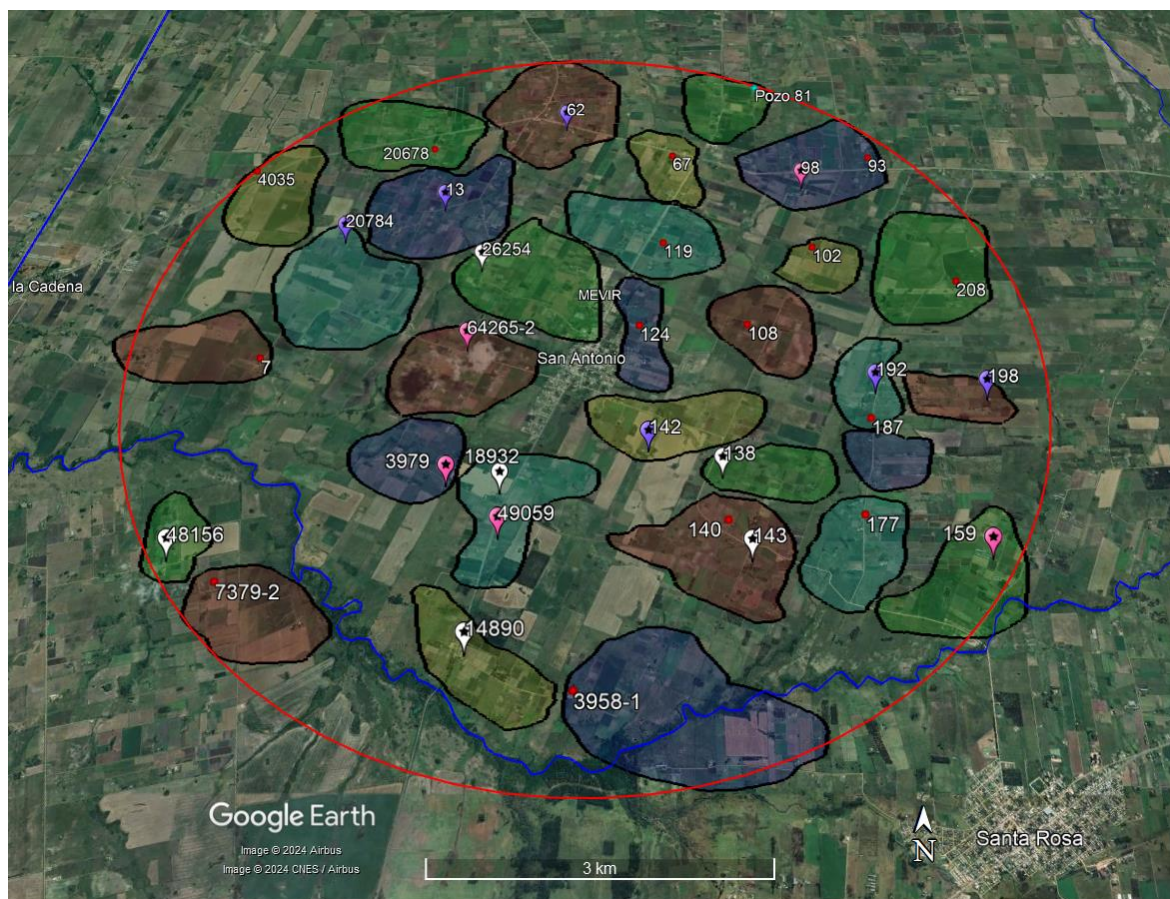


Figura 6.9 Lugares muestreados. Realizado en Google Earth.

En todos los conglomerados con excepción del 23 se pudo contar con participantes. En el caso particular de este conglomerado, no fue posible contar con participantes debido a que estaba compuesto por solo cuatro elementos: dos de ellos eran galpones, uno era un lugar deshabitado y en el otro residía una persona, pero la vivienda no disponía de agua. Debido a estas limitaciones, se decidió realizar el muestreo en el conglomerado vecino, C11. Cabe destacar que esta situación era previsible dado el método de selección de los elementos en los conglomerados, el cual contemplaba la posibilidad de encontrar unidades no aptas para el muestreo por diversas razones.

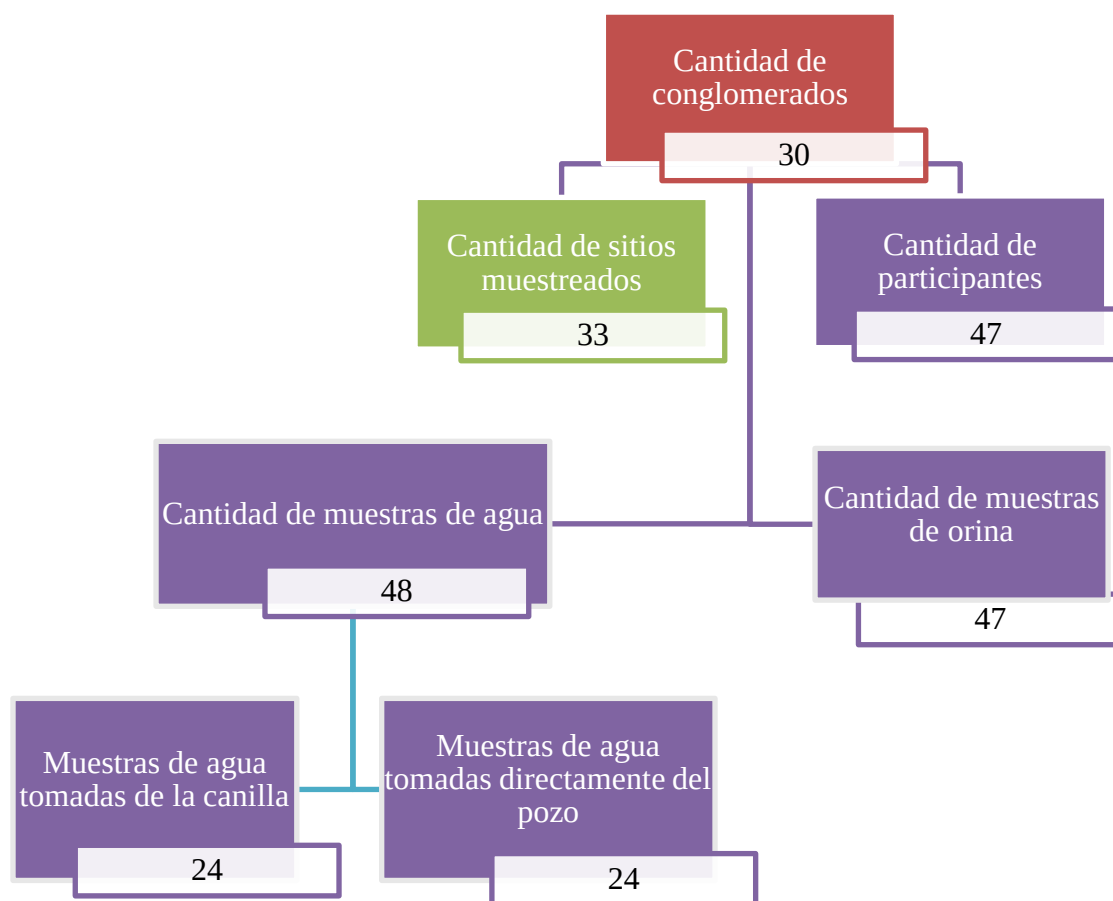


Figura 6.10 Esquema de los lugares visitados y las muestras tomadas

En la Figura 6.10 se esquematizan los sitios que se pudieron muestrear y las muestras que fueron recolectadas. En total, se obtuvieron 48 muestras de agua. De éstas, 24 corresponden a muestras obtenidas de una canilla cercana al pozo y 24 de la canilla de la cocina. En 15 lugares se obtuvieron las dos muestras, mientras que, en las 18 muestras restantes, 9 fueron solo de la cocina y 9 solo del pozo.

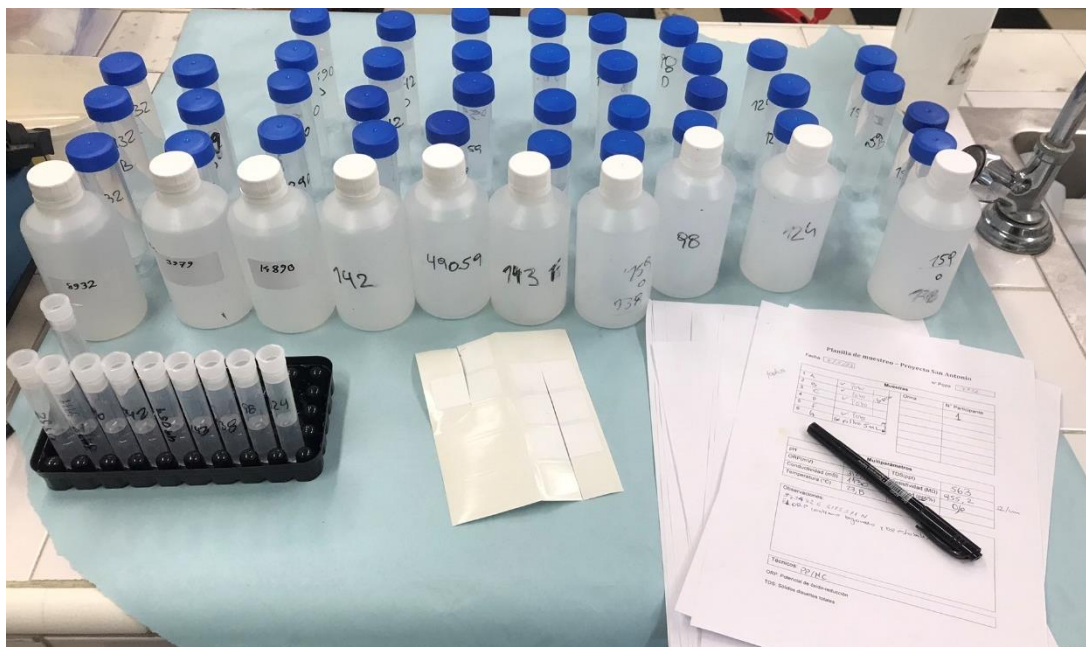


Figura 6.11 Muestras de agua en el laboratorio obtenidas luego de dos días de muestreo

Como se mostró en la Figura 6.10 en los sitios antes muestreados se recolectaron 47 muestras de orina de participantes adultos para la determinación de las especies de arsénico toxicológicamente relevantes en orina. A continuación, se detallan los resultados de las determinaciones analíticas realizadas a las muestras recolectadas de agua y de orina.

6.3.2. Determinaciones analíticas

En este apartado se muestran los principales resultados de los análisis realizados sobre las muestras obtenidas. En la mayoría de los casos los análisis fueron realizados por la autora de esta Tesis. En el caso específico de los aniones, los análisis fueron realizados por investigadoras del Área Química Analítica (Área Química Analítica, 2018).

6.3.2.1. Resultados de las especies de arsénico toxicológicamente relevantes en orina

A las orinas proporcionadas por los participantes se le determinaron las especies de arsénico toxicológicamente relevantes, biomarcador de exposición al arsénico inorgánico (Hays *et al.* 2018), como se ha mencionado anteriormente. Además, a esas muestras de orina se les

determinó el nivel de creatinina para decidir si se trataba de una muestra adecuada, según los criterios de la ACGIH (ACGIH, 2024) y para ajustar las concentraciones según la dilución de la orina debida a la ingesta de líquidos (ATSDR, 2009).

En la Tabla 6.1, se presentan los valores máximos y mínimos para el arsénico toxicológicamente relevante en orina, expresados en $\mu\text{g L}^{-1}$ y $\mu\text{g g de creatinina}^{-1}$, y la creatinina para todas las muestras recolectadas. Además, se da el valor de la mediana de los datos como medida de la tendencia central de distribución no normal de valores.

Tabla 6.1 Resultados de las medidas de especies toxicológicamente relevantes y creatinina en las muestras de orina

	Arsénico en orina ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Creatinina (g L^{-1})	Arsénico en orina ($\mu\text{g g crea}^{-1}$)
Min	1,1	0,3	0,8
Max	70,5	3,9	96,5
Mediana	18,8	1,8	11,2

Dada la importancia de estos resultados, a continuación, en la Figura 6.12, se presenta la concentración de arsénico toxicológicamente relevante en $\mu\text{g L}^{-1}$ para cada uno de los participantes.

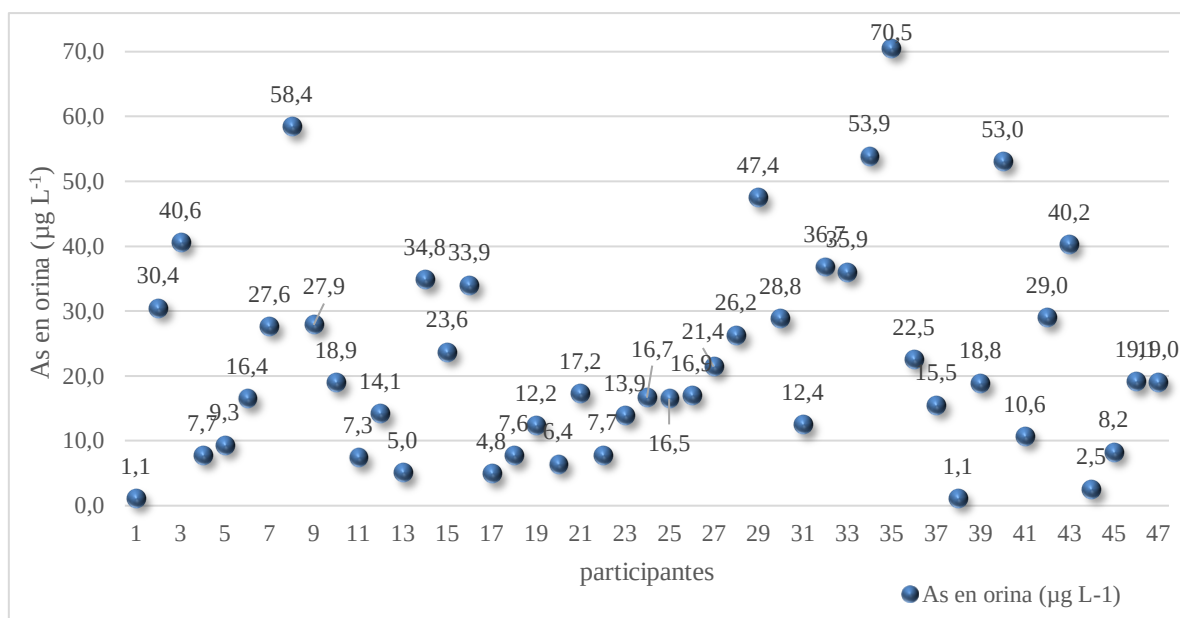


Figura 6.12 Resultados de arsénico toxicológicamente relevante en orina expresados en $\mu\text{g L}^{-1}$

En la determinación de arsénico en orina encontramos que las muestras correspondientes a los participantes 1 y 38 presentaron valores menores al límite de detección de la metodología analítica. Para poder incluir estos datos en los análisis estadísticos, se utilizó el límite de detección dividido la raíz cuadrada de dos según las indicaciones del CDC de Estados Unidos (CDC, 2024). Asimismo, la muestra 44 presentó un valor menor al límite de cuantificación. Para incluir este dato dentro de los cálculos estadísticos se optó por informar el valor tal cual como fue obtenido, conociendo que éste presenta una mayor incertidumbre asociada.

En el siguiente gráfico, Figura 6.13, se muestran los valores de creatinina determinados en la orina de los participantes. Valores mayores a $0,3$ y menores $3,0 \mu\text{g L}^{-1}$ se consideran aceptables (ACGIH, 2024).

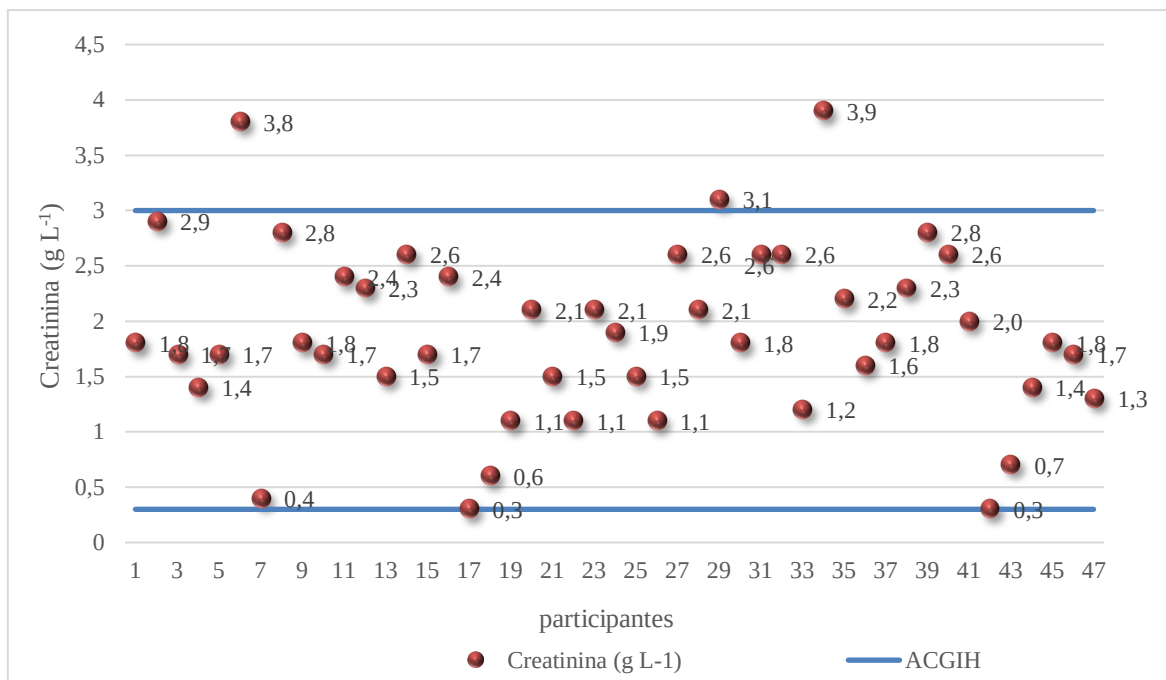


Figura 6.13 Resultados de creatinina en orina

Aquellos valores que están por fuera del rango aceptable no son considerados para la evaluación final de datos y en la Figura 6.14 no se representan.

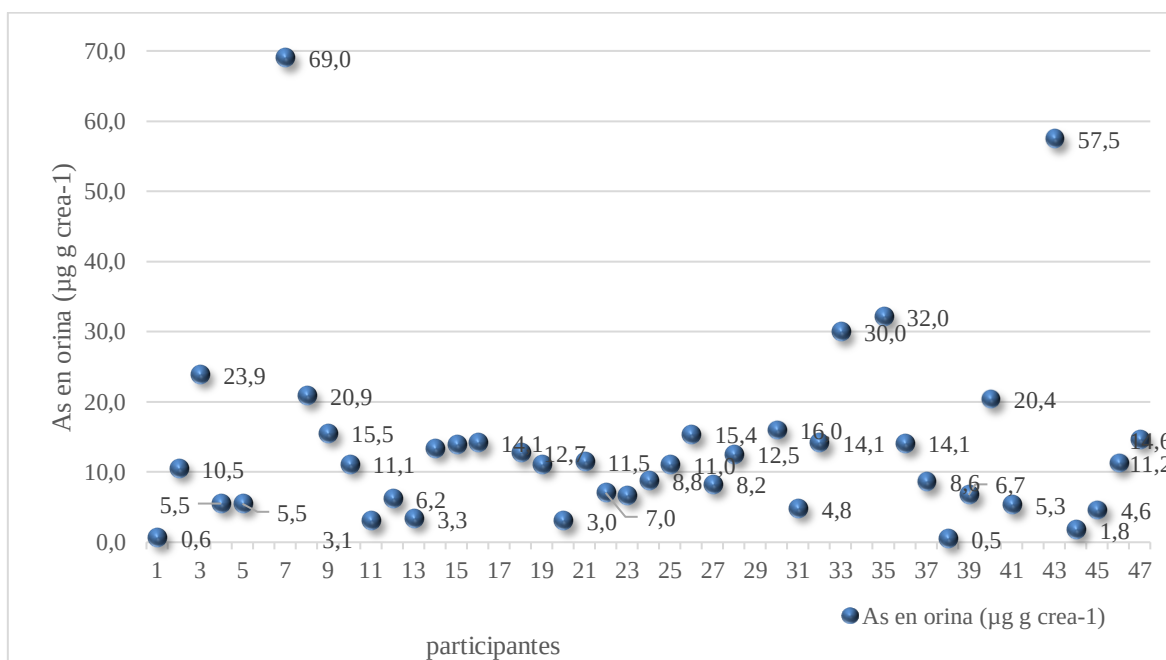


Figura 6.14 Resultados de arsénico toxicológicamente relevante en orina expresados en $\mu\text{g g creatinina}^{-1}$

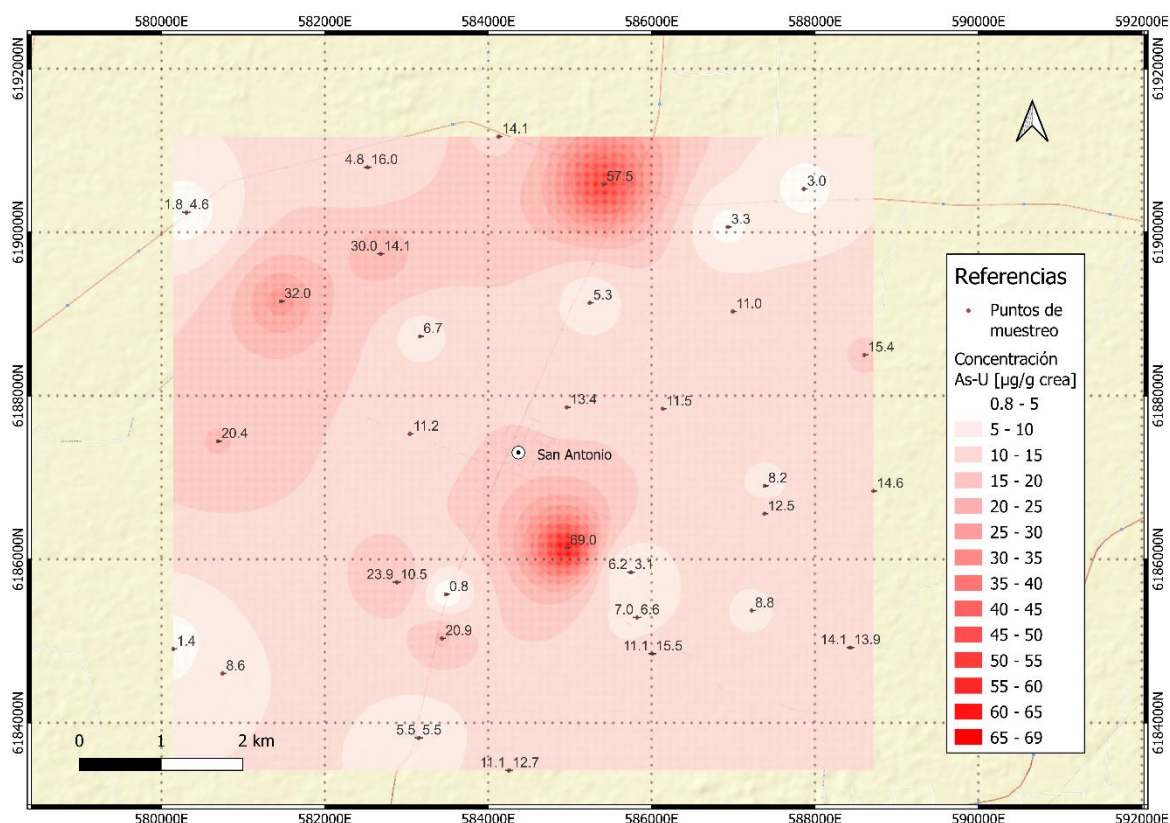


Figura 6.15 Mapeo de los niveles de arsénico en la orina $\mu\text{g g creatinina}^{-1}$. Realizado en Qllys

Es de destacar la cuantificación de este elemento en la orina, su aparición en la misma nos da indicio de la exposición actual a este tóxico. Si evaluamos otros estudios en la región nos encontramos con una amplia distribución de los valores. Un trabajo publicado por Navoni *et al.* (2014) muestra niveles de arsénico en orina muy variables desde 11 hasta $5085 \mu\text{g g de creatinina}^{-1}$. Estos valores pertenecen a un estudio en la región centro-norte de Argentina, abarcando unas 19 localidades, que tienen niveles también variables de arsénico en el agua subterránea consumida por la población (entre no detectable y $2055 \mu\text{g L}^{-1}$) en una población de 661 participantes de todas las edades.

En 2005 (Cáceres *et al.*, 2005), un trabajo de investigación en Chile evaluó el nivel de arsénico total en orina en las regiones de Antofagasta, Santiago y Temuco, con la participación de 756 personas, entre ancianos, adultos y jóvenes. Los resultados de arsénico varían entre grupos, pero los niveles más altos se encontraron en Antofagasta en el grupo de adultos con un rango de 6 a $567 \mu\text{g g de creatinina}^{-1}$, y el rango más bajo de 5,5 a $76 \mu\text{g g de creatinina}^{-1}$.

creatinina⁻¹ en los jóvenes de Temuco. En dicha investigación no solo se evaluó el aporte del agua, sino que se evaluaron otras posibles fuentes. En el caso de Antofagasta los valores de arsénico urinario se relacionaron positivamente en jóvenes y adultos y negativamente en los ancianos con el nivel de arsénico en agua. Para Santiago y Temuco no encontraron asociación, pero hay que resaltar que en este caso son niveles de arsénico total, que incluyen por lo tanto arsenobetaína. Por su parte, en Estados Unidos, se puede extraer de la *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) del CDC (National Center for Health Statistics, 2024) valores de especies toxicológicamente relevante de arsénico en orina. En esta oportunidad nos fijamos en el valor corregido por creatinina entre los años 2011 a 2018 y en ese caso los valores medios estuvieron entre 4,74 y 6,63 $\mu\text{g g de creatinina}^{-1}$ en la población de todos los rangos etarios (CDC, 2019).

En Uruguay no hay reportes de valores de población adulta expuesta ambientalmente. Se conocen niveles de arsénico en orina, pero únicamente de la población trabajadora expuesta al arsénico presente en el impregnante de madera CCA (mezcla cobre, cromo y arsénico) (Bühl, *et al.* 2018), a la que se le realizan controles periódicos de acuerdo a las normativas vigentes (MSP, 2009).

6.3.2.2. Resultados de arsénico total y sus especies en agua

Los resultados de las concentraciones de arsénico total determinados en las muestras de agua muestreadas en la localidad de San Antonio se observan en la Figura 6.16

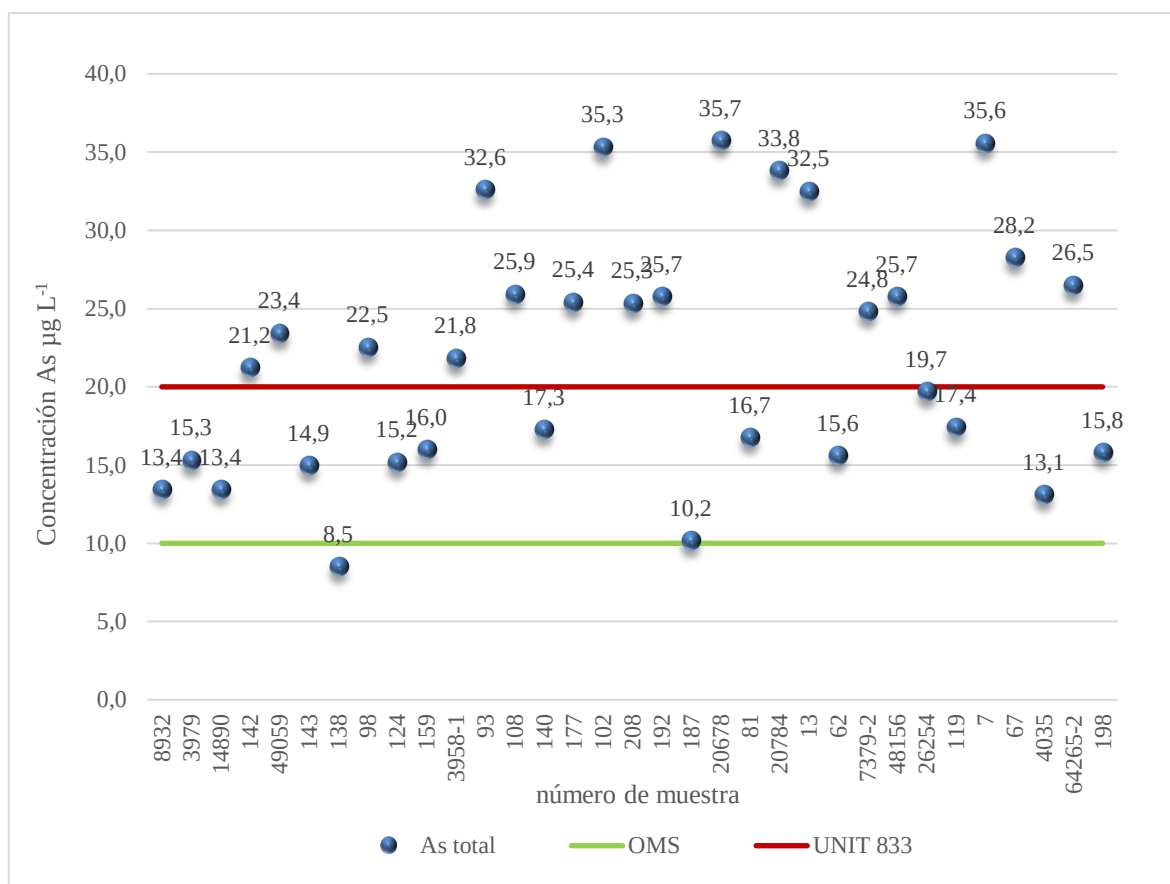


Figura 6.16 Resultados del análisis de muestras de agua subterránea en Canelones en 2023 mediante HG-MP-AES

En este estudio, al igual que en el análisis descrito en el Capítulo 4, los valores de arsénico en el agua subterránea superaron los niveles aceptables recomendados por la OMS (OMS, 2022). De las muestras recolectadas, se encontró que sólo una muestra cumplió con el valor recomendado por la OMS, y sólo el 45 % de las muestras cumple con la normativa establecida en Uruguay. A modo de resumen, el 55 % de las muestras estudiadas en San Antonio presentaron valores no permitidos en nuestra normativa y el 97% de las muestras no son aceptables para la salud de las personas que la consumen según las pautas internacionales.

Existe una muy amplia bibliografía respecto a la presencia de arsénico geogénico en las aguas subterráneas de países de todo el mundo. En el libro *Essentials of Medical Geology*, tanto en su primera edición en 2005 como en la edición revisada en 2013 (Smedley & Kinniburgh, 2015) ya se ve en el mapa de ocurrencia del arsénico en el agua subterránea la

gran cantidad de países afectados con niveles mayores a $50 \mu\text{g L}^{-1}$. Bangladesh, India, Argentina y Chile, entre muchos otros países se encuentran afectados por esta problemática. En todos los casos los niveles de arsénico en el agua han sido muy variables. En particular, en la región, desde hace varios años ya se describen valores que superan lo recomendado por la OMS (Bundschuh *et al.*, 2008; Navoni *et al.*, 2012; Bundschuh *et al.*, 2014; Litter *et al.*, 2019; Pincetti-Zúniga *et al.*, 2022). En varios de estos trabajos y dependiendo de las áreas de estudio, se ven valores cercanos a los $50 \mu\text{g L}^{-1}$ pero hay trabajos que muestran que se ha llegado a concentraciones de arsénico de hasta $5000 \mu\text{g L}^{-1}$. Como se vio en este capítulo y en el Capítulo 4, los valores hallados en Uruguay varían desde valores no detectables hasta un máximo de $100 \mu\text{g L}^{-1}$, (Machado, Bühl, & Mañay, 2019) aunque un trabajo reportó un valor excepcional para nuestro país de $120 \mu\text{g L}^{-1}$.

Con los valores obtenidos de arsénico total se realizó un mapa de riesgo debido a los niveles de arsénico en el agua subterránea para la zona de estudio, el cual se observa en la Figura 6.17. La intensidad en el color rojo indica mayor nivel de arsénico en el agua subterránea. Este mapa permite identificar zonas de mayor y menor riesgo frente al peligro dado por la presencia de arsénico en el agua de consumo.

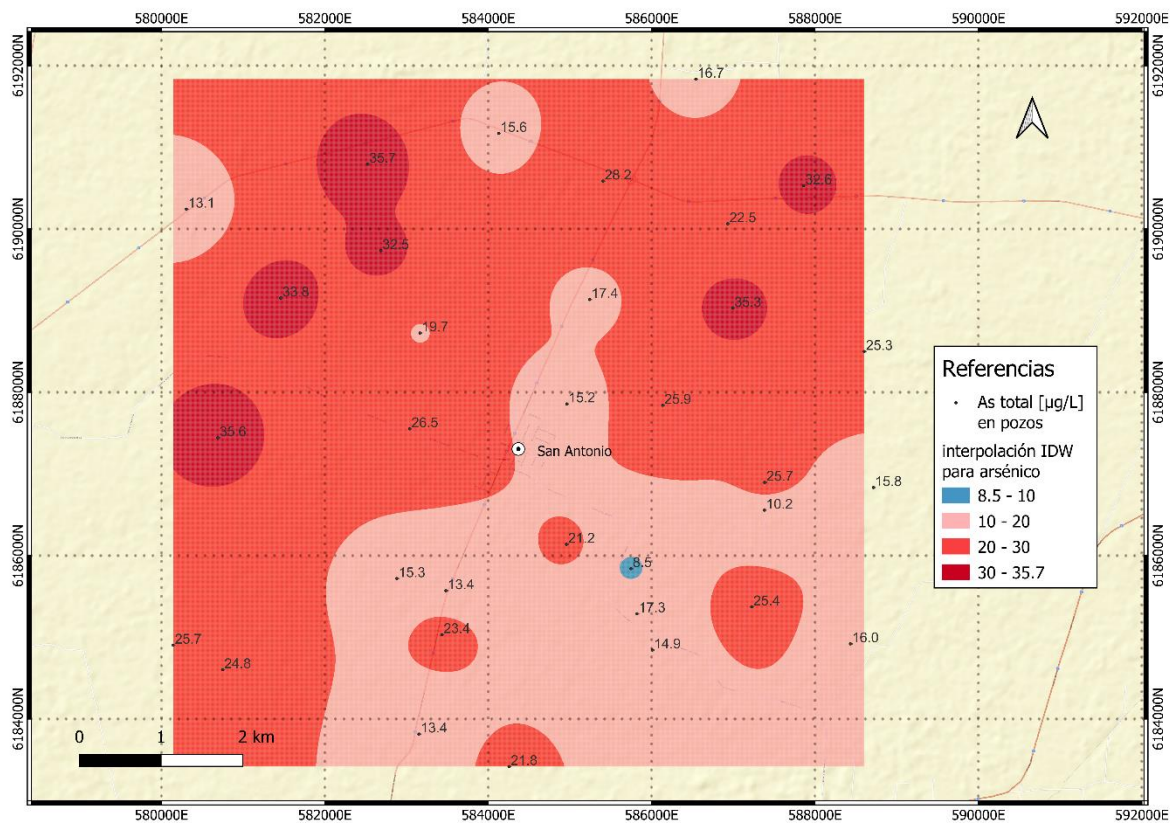


Figura 6.17 Mapa de riesgo debido a los niveles de arsénico presentes en el agua subterránea. (a más intensidad del color rojo mayor nivel de arsénico en el agua). Realizado en Qllys

Como otra parte de la investigación, en 15 de los elementos estudiados se pudo obtener tanto una muestra de agua directa del pozo como una muestra de agua de la canilla de la cocina. En estos casos, los resultados de arsénico total no presentaron diferencias importantes entre sí, mostrando que el contenido de arsénico no cambia, no presenta variaciones ni tiene otras fuentes. Esto se muestra en la Figura 6.18.

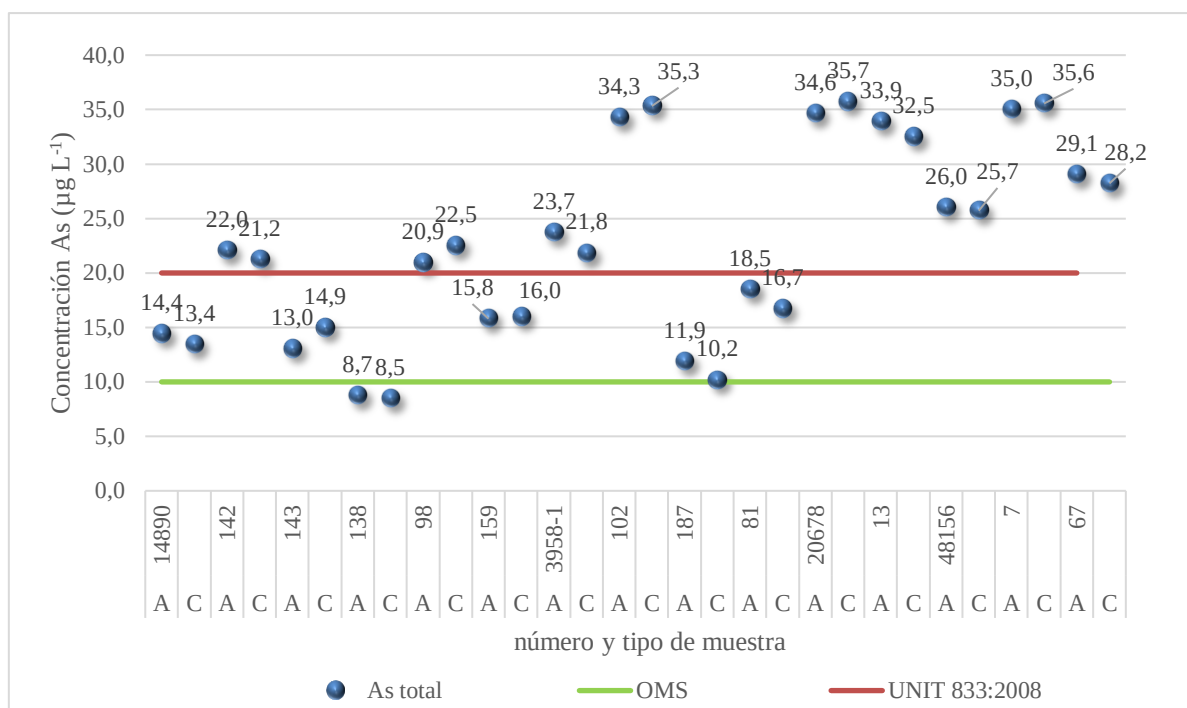


Figura 6.18 Concentración de arsénico medida en las muestras de agua extraída de la canilla de la cocina (A) y de agua extraídas directa del pozo (C)

En el proceso de análisis, además, las muestras de agua extraídas fueron sometidas a especiación analítica del arsénico según el protocolo que se describe en 3.2.2.1. En aquellos casos en los que se obtuvieron dos muestras de una misma vivienda (una del pozo y otra de la canilla de la cocina), se realizó la especiación en ambas para detectar posibles diferencias. Las diferencias podrían deberse, por ejemplo, al almacenamiento del agua en tanques o en su circulación a través de tuberías, lo que podría alterar las condiciones físico-químicas del agua, lo que a su vez podría influir en las especies de arsénico presentes.

En la Figura 6.19 se presentan los resultados del análisis de arsénico y sus especies en las diferentes muestras analizadas.

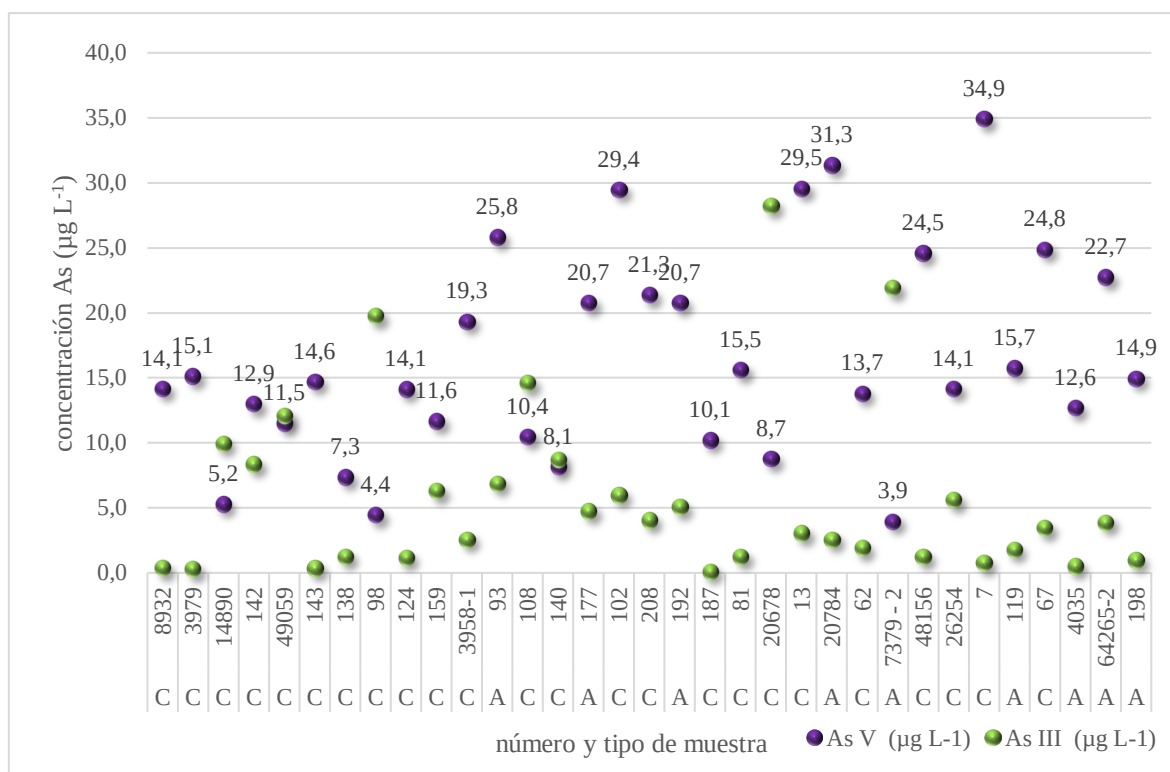


Figura 6.19 Resultado de la especiación analítica realizada en las muestras de agua

Al estudiar los resultados obtenidos al realizar la especiación analítica se puede ver que, en la mayoría de las muestras estudiadas, la especie predominante es el As(V), con 26 de las 33 muestras analizadas con una mayor concentración de esta especie. Este resultado era esperable por los valores de potencial redox y pH encontrados en las aguas (Tabla 6.2). No obstante, en 5 muestras se detectó un mayor porcentaje de As(III) y en 2 muestras, ambas especies se presentaron en proporciones aproximadamente iguales.

Como se mencionó en el Capítulo 4, estos valores de potenciales y pH, sumado a que el As(V) sea la especie predominante, es acorde con investigaciones anteriores realizadas en países como Argentina y Chile (Bundschuh *et al*, 2008; RSA-CONICET, 2018).

Para ampliar la información se realizó también la especiación analítica en las muestras de agua extraídas directamente del pozo y en las muestras de agua extraídas de la canilla de la cocina. Al evaluar los datos, se encuentra que en 3 muestras de las 15 analizadas presentan valores diferentes, en 2 de ellas el agua de la canilla de la cocina presenta más As(III) y en el otro caso presenta más As(V) que lo que presentaba su respectiva agua de pozo.

En el caso de la muestra donde se encontró más As(V) en la cocina, es posible que el contacto del agua con el oxígeno del aire durante el almacenamiento en el tanque o en el trayecto del pozo a la cocina haya provocado una oxidación del As(III) a As(V). Sin embargo, en el caso de la mayor presencia de As(III), no se poseen datos adicionales sobre las condiciones del agua (como pH o Eh) para poder dar una explicación a este hallazgo, aunque sería esperable la existencia de condiciones de potencial y pH favorables a la existencia de esta especie reducida.

Por su parte, Sigrist *et al.* (2014) encontraron en muestras de agua de Santa Fe, Argentina, valores que van de 25,8 a 400,4 $\mu\text{g L}^{-1}$ donde los valores de As(III) fueron no detectables o no cuantificables, por lo que el arsénico allí presente estaba en estado de oxidación + 5.

6.3.2.3. Resultados de los parámetros físico-químicos

En la Tabla 6.2, se muestran los resultados de los parámetros medidos en campo, mostrando el valor mínimo, el máximo y el promedio o la mediana de cada uno. En la mayoría de los casos la distribución de los datos no sigue una distribución normal (según la prueba de Shapiro-Wilk) por lo que se optó por calcular la mediana como medida representativa de la tendencia central. Se debe mencionar que estos parámetros solo se midieron en las muestras de agua extraídas directamente del pozo, o en el agua de la canilla de la cocina, cuando no se podía obtener esa muestra.

Tabla 6.2 Resumen de resultados de parámetros medidos en campo y VMP de la Norma UNIT 833

	pH	Eh (mV)	Conductividad (S cm ⁻¹)	Sólidos Totales disueltos (mg L ⁻¹)	Resistividad (Ω cm ⁻¹)	Salinidad (ppt)
Mínimo	7,22	147,5	753	377	271	0,1
Máximo	8,32	861,4	2420	1210	>1000	1,9
Promedio	7,57	327,9	1404	701	771	0,7
Mediana	7,56	318,6	1319	658	753	0,7
UNIT 833	6,5-8,5	N/A	2000	1000	N/A	N/A

Los valores obtenidos de pH, conductividad y sólidos totales disueltos en las muestras de agua de pozo estuvieron dentro de los valores máximos permitidos definidos en la norma UNIT 833:2008, a excepción de una sola muestra que alcanzó un valor de conductividad y de sólidos totales disueltos de 2420 $\mu\text{S cm}^{-1}$ y 1210 mg L^{-1} respectivamente.

Los valores de pH y potencial redox muestran que el medio es oxidativo, lo que concuerda con los hallazgos de que la especie de arsénico predominante en las aguas analizadas fue el As(V). Como ya se ha dicho, el arsénico en las aguas se encuentra formando oxoaniones y la concentración de estas especies dependerán de las condiciones redox, el pH y la actividad biológica (Litter, 2018).

Se evaluaron otros parámetros químicos en el agua con el fin de conocer las características del agua subterránea que es utilizada para beber en San Antonio. En la Tabla 6.3 y en la Tabla 6.4 se puede ver el valor mínimo (Min) y máximo (Max) de cada parámetro y la mediana ya que, a excepción del fluoruro, no presentan una distribución normal (según *Shapiro-Wilk*). Asimismo, se muestran los valores máximos permitidos (VMP) según la norma UNIT 833:2008 para poder comparar los resultados obtenidos con esos valores de referencia.

Tabla 6.3 Medida de parámetros químicos del agua en el laboratorio

	Ca (mg L⁻¹)	Mg (mg L⁻¹)	Dureza CaCO₃ (mg L⁻¹)	K (mg L⁻¹)	Na (mg L⁻¹)	Mn (mg L⁻¹)
Min	16	7	103	0,4	125	0,02
Max	166	44	507	8,6	603	0,10
Mediana	57	18	237	3,3	249	0,04
VMP (UNIT 833, 2010)	N/A	N/A	500	N/A	200	0,10

Tabla 6.4 Medida de parámetros químicos del agua en el laboratorio(continuación)

	F⁻ (mg L⁻¹)	Cl⁻(mg L⁻¹)	SO₄²⁻ (mg L⁻¹)	NO₃⁻ (mg L⁻¹)
Min	0,1	10	13	5
Max	1,0	784	449	133
Mediana	0,5	103	90	16
VMP (UNIT 833, 2010)	1,5	250	400	50

Si analizamos los parámetros que aparecen en las Tabla 6.3 y la Tabla 6.4 respecto a lo que indica la norma (UNIT 833:2008, 2010), los valores de flúor y manganeso estuvieron por debajo de los valores máximos permitidos, mientras que algunos parámetros como la dureza, cloruro, sulfato y nitrato superaron los límites permitidos en algunas muestras. En el caso del sodio, en 23 muestras se encontraron valores que superan el máximo permitido por la norma. Esto podría deberse a un origen geogénico, aunque se necesitan otro tipo de estudios en el área para conocer el origen del sodio en estas muestras.

6.3.3. Encuesta

Se realizó la encuesta a los 47 participantes del estudio. En la Tabla 6.5 se presenta la información más relevante recabada. En el caso de que la respuesta sea cuantitativa se encuentra el valor mínimo, el máximo y la mediana de dichas medidas, mientras que si es cualitativa se registra el % de participantes que optó por cada opción.

Tabla 6.5 Datos obtenidos a partir de la encuesta

Datos generales					
Total de participantes	47				
Sexo (% de participantes)	Femenino		Masculino		
	62		38		
Ocupación (% de participantes)	Jubilado/a	Trabajador/a Rural	Amo/a de casa	Veterinario/a	Otros
	11	21	4	2	9
Datos personales					
	Min		Max		Mediana
Edad (años)	22		85		56
Peso corporal (Kg)	38		120		79
Tiempo de residencia (años)	0,1		78		34
Tiempo de uso del pozo (años)	0,1		78		18
Índice de exposición durante su residencia * (µg/L/día)	0,0		2,4		0,7
Consumo de agua					

	Min	Max	Mediana
Volumen de agua que bebe (*) (L)	0,3	5,0	1,5
Volumen de agua que bebe en infusiones (***) (L)	0,1	4,0	1,2
Volumen de agua ingerido total (*+***) (L)	0,4	6,1	3,0
	Pozo	Embotellada	OSE
Tipo de agua que bebe (% de participantes)	78	17	4
Tipo de agua que prepara infusiones (% de participantes que consume infusiones) (N: 40)	95	2	3
Tipo de agua que utiliza para cocinar (% de participantes)	98	2	-
Alimentación			
	Sí		No
Carne roja (% de participantes)	96		4
	De 7 a 5 veces a la semana	De 4 a 3 veces a la semana	Menos 3 veces a la semana
	51	33	16
Pollo (% de participantes)	83		17
	De 5 a 4 veces a la semana	3 o menos veces a la semana	No sabe
	8	87	5
Pescado (% de participantes)	60		40

	Todas las semanas	Cada 15 días	Alguna vez al año
	33	33	33
Mariscos (% de participantes)	2 (en alguna ocasión)		98
Cereales (% de participantes)	98		2
	De 7 a 5 veces a la semana	De 4 a 3 veces a la semana	Menos 3 veces a la semana
	6	47	47
Hábitos			
		Si	No
Fumador (% de participantes)		19	81
Exfumador (% de participantes no fumadores) (N:38)		2	98
Consume bebidas alcohólicas		45 (algunas ocasiones)	55

* Valor calculado a partir de los datos de la encuesta. El índice de exposición, $IE = \frac{C \times IR \times ED}{BW \times AT}$, se define como la concentración de arsénico por el volumen de agua ingerida sobre el peso corporal por el tiempo promedio definido (OMS, 2021). Para el ED y el AT se utilizó el tiempo que los participantes respondieron que hace que utilizan el agua del pozo.

De los datos se desprende información muy importante, como la alta ingesta de agua, con una mediana superior a los 2 L, el elevado consumo de agua de pozo ya sea para cocinar, beber o preparar infusiones como mate, té y café y el tiempo de residencia de los participantes en el lugar. El volumen de agua e infusiones ingerido fue informado por cada participante; en algunos casos, se informaba cantidad de vasos o termos de mate. Para pasar

a volúmenes dichas respuesta se estableció que un vaso de agua equivale a 200 mL y un termo a 1 L.

Es importante mencionar que un consumo de agua (como sumatoria de agua e infusiones) por encima de los 5 L diarios es excesivo, pero hay que remarcar que no es inusual durante el trabajo físico intenso, especialmente en días muy calurosos, donde la sudoración excesiva puede llevar a una pérdida significativa de líquidos. En estas condiciones, el cuerpo necesita reponer el agua perdida para mantener el equilibrio hídrico y evitar la deshidratación.

La información de consumo de agua y tiempo de residencia es relevante al momento de hacer la evaluación de riesgos donde, en primer lugar, se ve la exposición prolongada en la mayoría de los participantes y, segundo, que la ingesta supera los 2 L por lo que al momento de realizar una caracterización de riesgos, estos serán mayores que el calculado teóricamente.

6.3.4. Tratamiento de datos

En la Tabla 6.6 se muestran el resultado del análisis de correlación entre el nivel de arsénico urinario (As ($\mu\text{g g crea}^{-1}$)) con las variables estudiadas.

Tabla 6.6 Coeficientes de correlación de Spearman entre As-U $\mu\text{g g crea}^{-1}$ y algunas de las variables estudiadas

X	Y	ρ	p-valor
As ($\mu\text{g g crea}^{-1}$)	Tiempo de residencia (años)	-0,24423	0,114487
As ($\mu\text{g g crea}^{-1}$)	Tiempo de uso del pozo (años)	0,058249	0,714057
As ($\mu\text{g g crea}^{-1}$)	Índice de exposición	0,467048	0,002379
As ($\mu\text{g g crea}^{-1}$)	Concentración de arsénico en agua	0,325545	0,037802
As ($\mu\text{g g crea}^{-1}$)	Tipo de agua bebe: OSE	-0,24027	0,120674
As ($\mu\text{g g crea}^{-1}$)	Tipo de agua bebe: embotellada	-0,34192	0,024824
As ($\mu\text{g g crea}^{-1}$)	Tipo de agua bebe: pozo	0,434719	0,003579
As ($\mu\text{g g crea}^{-1}$)	Tipo de agua que utiliza para cocinar: Pozo	0,248682	0,107826

As ($\mu\text{g g crea}^{-1}$)	Agua de pozo ingerida en el día (L)	0,376484	0,012834
As ($\mu\text{g g crea}^{-1}$)	Consumo de carnes rojas	0,088988	0,570396
As ($\mu\text{g g crea}^{-1}$)	Consumo de aves	-0,14447	0,355326
As ($\mu\text{g g crea}^{-1}$)	Consumo de pescado	0,079772	0,611103
As ($\mu\text{g g crea}^{-1}$)	Consumo de cereales	0,106786	0,495517
As ($\mu\text{g g crea}^{-1}$)	Fumador_sí	-0,12039	0,441888
As ($\mu\text{g g crea}^{-1}$)	Ex-fumador (más de 1 año) sí	-0,01243	0,936924
As ($\mu\text{g g crea}^{-1}$)	¿Consume bebidas alcohólicas durante las comidas o en su tiempo libre?_no	-0,10189	0,515609
As ($\mu\text{g g crea}^{-1}$)	¿Consume bebidas alcohólicas durante las comidas o en su tiempo libre?_sí	0,101887	0,515609
As ($\mu\text{g g crea}^{-1}$)	HQ datos	0,458342	0,002581
As ($\mu\text{g g crea}^{-1}$)	CR datos	0,371242	0,016862

La información que se describe en la tabla anterior muestra que el nivel de arsénico urinario se correlaciona de forma positiva y estadísticamente significativa con el índice de exposición ($\rho = 0,467$ y $p\text{-valor} = 0,00238$) lo cual muestra una correlación moderada con la exposición al arsénico a través del consumo de agua contaminada. Asimismo, existe correlación positiva con el tipo de agua (pozo) ($\rho = 0,4347$ y $p\text{-valor} = 0,00358$) y con la cantidad de agua de pozo ingerida ($\rho = 0,376$ y $p\text{-valor} = 0,01283$), lo que puede confirmar que la exposición al arsénico se produce por el consumo de agua de pozo contaminada.

En la Figura 6.19 se observa la correlación entre del índice de exposición y el arsénico en la orina.

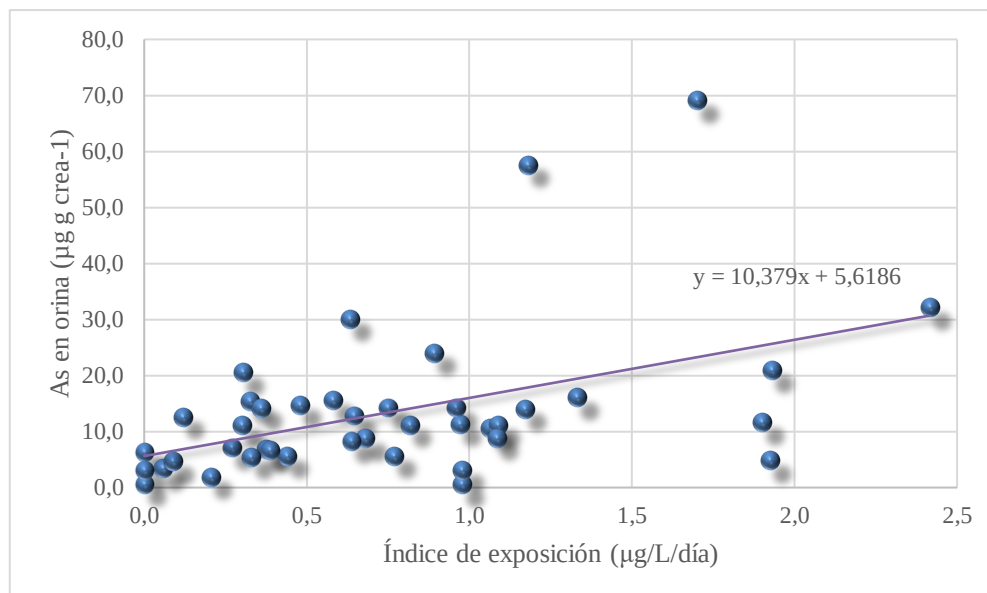


Figura 6.20 Gráfico de dispersión del índice de exposición y la concentración de arsénico en orina

6.3.5. Evaluación de los riesgos a la salud por exposición al arsénico a través del consumo de agua subterránea

En esta oportunidad la evaluación de riesgos se realizó con los datos recabados de la encuesta. De allí se estimó el promedio de consumo de agua y de peso corporal. Se hizo primero una estimación de los riesgos sólo para adultos según la metodología descrita.

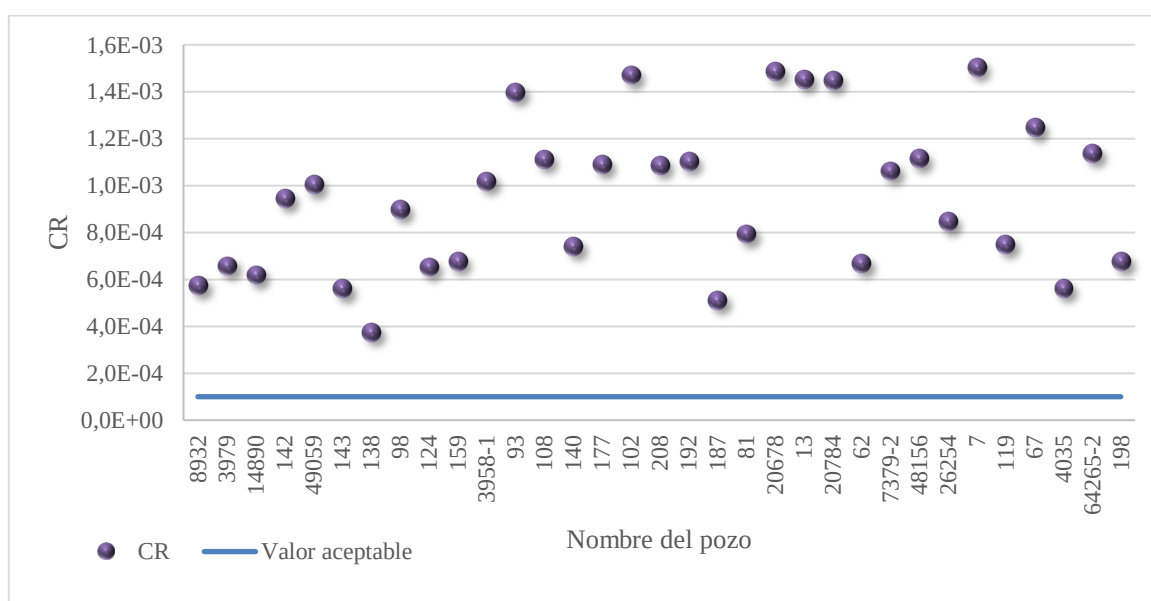


Figura 6.21 Resultados de la CR realizada para adultos con los niveles de arsénico presente en el agua para cada pozo.

En la Figura 6.21 puede verse que ningún nivel de arsénico en el agua muestra un valor de CR aceptable para las personas que consumen esa agua durante toda su vida. Llama la atención que el pozo 138 presenta un valor de arsénico aceptable para la OMS, pero el resultado obtenido al realizar la caracterización de riesgos muestra que la situación en las condiciones establecidas no es aceptable. Como se explicó anteriormente (5.2.1) esto se debe a que no hay una concentración de arsénico en agua que se considere segura y libre de riesgos y $10 \mu\text{g L}^{-1}$ es un valor provisional de la OMS que se define por las capacidades analíticas para su cuantificación y las posibilidades tecnológicas de remoción de arsénico (UNIT 833:2008, 2010).

En esta oportunidad se calculó el riesgo de cáncer con los datos promedio de la encuesta. En la Figura 6.22 se observa el resultado del CR al momento que se realizó la encuesta a los participantes.

Se calculó el CR utilizando los datos de los niveles de arsénico en cada pozo. Se llamó CR teórico al resultado de la caracterización de riesgos realizada con los datos de IR y BW recomendados por la literatura (2L y 70 kg respectivamente). Por otro lado, se realizó el cálculo de lo que se llamó CR datos, utilizando los datos de IR y BW obtenidos en la encuesta. Para el IR se utilizó el promedio del volumen de agua subterránea consumida por todos los participantes, ya sea como agua de bebida o como infusiones. En el caso del BW se utilizó la masa corporal promedio de los participantes.

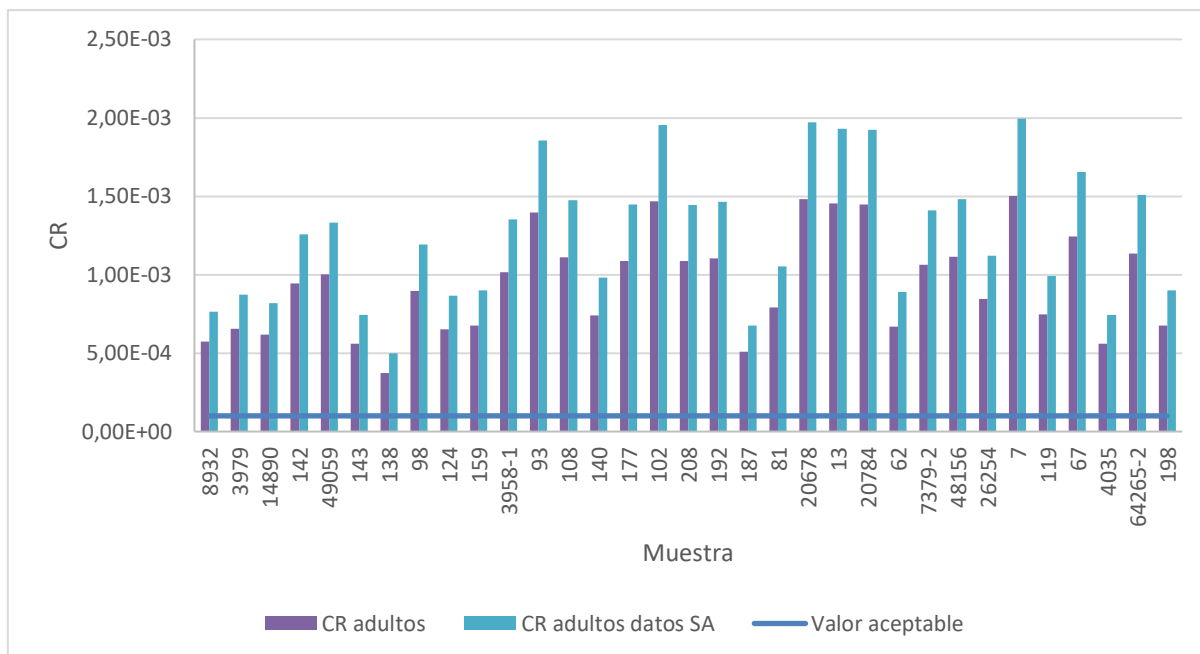


Figura 6.22 Resultados de la CR realizada para adultos con los niveles de arsénico presente en el agua (CR adultos) y CR realizado con los datos promedio de la encuesta (CR adultos datos).

Al analizar los resultados, se observa que los CR teóricos son superados por los CR datos. Esto puede deberse principalmente a que la gente consume más de 2 L de agua al día, por lo que la exposición es mayor a la estimada.

De acuerdo con nuestros resultados, en el año 2023, el 68 % de los participantes del estudio se encontraban en una situación no aceptable con respecto a los efectos cancerígenos, al consumir agua subterránea con arsénico.

Si se evalúa los riesgos de efectos no cancerígenos (HQ), para manifestaciones dermatológicas y efectos cardiovasculares las tendencias se mantienen. El HQ teórico es aceptable para aquellas personas que no consumen el agua de sus pozos.

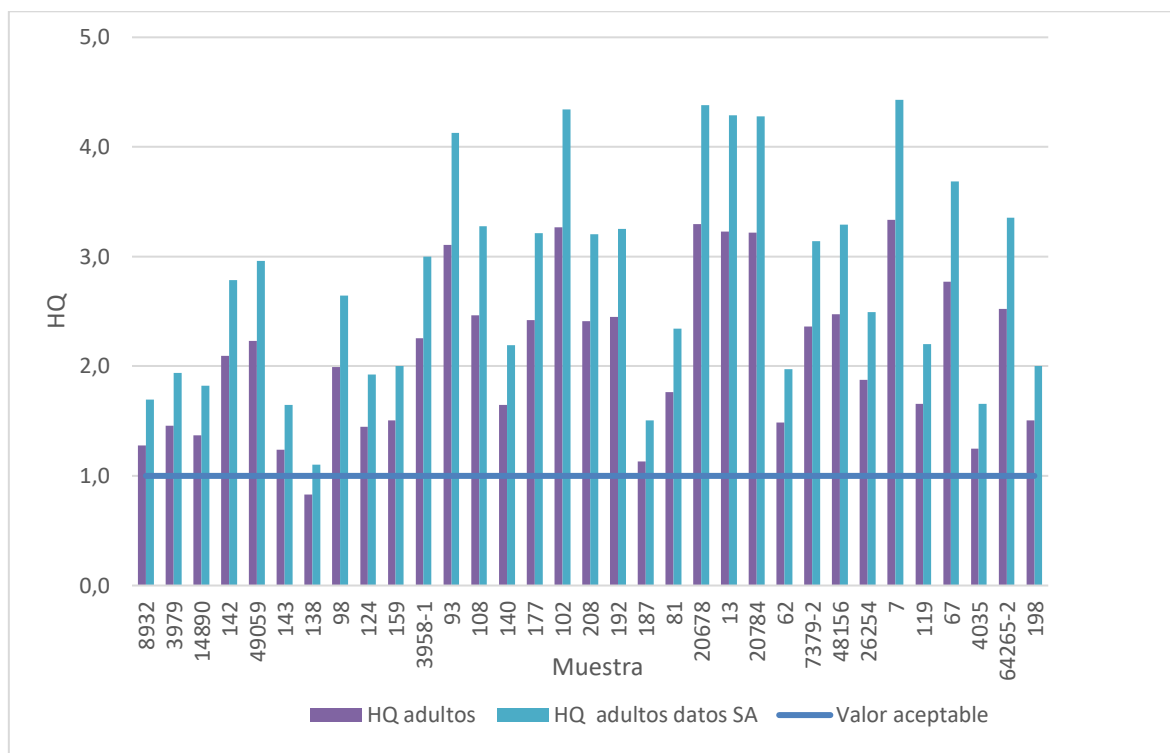


Figura 6.23 Valores de HQ por participante calculado teóricamente y con los datos recabados según encuesta orientada para los niveles de arsénico en muestras de agua subterránea extraídas en Canelones en el 2023

Vemos nuevamente que los participantes presentan un HQ calculado con los datos obtenidos en la encuesta mayor que el HQ teórico y esto se debe fundamentalmente a que el consumo de agua es mayor a 2L por día. El 81% de las muestras de agua, dado su nivel de arsénico, puede presentar riesgos de efectos no cancerígenos a personas que la consuman.

Los resultados permitieron demostrar que el realizar la evaluación de riesgo utilizando los datos obtenidos de la encuesta es una aproximación más real de la situación, pero implica un costo operativo más amplio que una evaluación de riesgo clásica. En este caso, lo que se evidenció fue que a pesar de que teóricamente hay riesgo dados los niveles de arsénico presentes en el agua, de acuerdo con el estilo de vida que presentan los participantes de esta investigación, el riesgo denota un incremento. Como se concluye en el trabajo de Othax *et al.* (2019), el valor teórico de consumo de agua puede, dependiendo del caso, subestimar o

sobrestimar el riesgo de exposición al arsénico a través del consumo de agua lo que está acorde con nuestros hallazgos.

En suma, los participantes en su gran mayoría consumen el agua subterránea y además se caracterizan por presentar un alto tiempo de residencia en la zona y en particular en el mismo lugar de donde se tomaron las muestras del pozo.

6.4. Devolución de resultados a la comunidad¹⁴

La devolución de los resultados del proyecto de investigación de esta Tesis se realizó a través de un taller financiado por la Comisión Sectorial de Extensión y Actividades en el Medio (CSEAM), dirigido, no solo a los participantes sino a toda la comunidad. La convocatoria se realizó a través de la difusión de la imagen que se puede observar en la Figura 6.24.

El taller se llevó a cabo de manera interdisciplinaria con profesionales de la salud, médicos, químicos y geólogos. Además, se contó con la participación de estudiantes y docentes de las Facultades de Química y Medicina, de asociaciones de la zona y de autoridades departamentales vinculadas con el medio ambiente y la ruralidad.

¹⁴ En el marco del proyecto aprobado por la Comisión Sectorial de Relacionamento con el Medio. 1ª convocatoria 2024



Figura 6.24 Imagen de la convocatoria a la comunidad de San Antonio.

6.5. Conclusiones parciales del estudio poblacional

Este estudio realizado en la zona rural de San Antonio, Canelones, permitió caracterizar y evaluar los niveles de exposición al arsénico en la población a través del consumo de agua de pozos privados. A partir de los análisis físico-químicos y la especiación analítica de las muestras de agua, así como de las determinaciones de arsénico en orina de los participantes, se obtuvieron las siguientes conclusiones preliminares:

- En el 55% de las muestras de agua subterránea analizadas, los niveles de arsénico exceden los límites establecidos por la normativa uruguaya (UNIT 833:2008), mientras que el 97% de las muestras superan los valores recomendados por la OMS para el consumo humano aceptable. Estos hallazgos indican que existe un problema en la calidad del agua subterránea de la zona, lo que conlleva un riesgo potencial para la salud de los habitantes que consumen dicha agua.
- La especiación analítica del arsénico en las muestras de agua reveló que la especie predominante es el As(V), lo que concuerda con los valores de pH y potencial redox medidos en las muestras, que indican condiciones oxidantes en las aguas subterráneas.
- En los casos en que se tomaron muestras tanto del pozo como de la canilla de la cocina, no se observaron diferencias significativas en la concentración de arsénico total. Sin embargo, se detectaron variaciones en la proporción de especies de arsénico en tres de las viviendas, lo que indica que el agua almacenada o canalizada podría experimentar transformaciones químicas que modifiquen la especiación del arsénico.
- Al realizar la caracterización de riesgos, se concluyó que ninguna de las concentraciones de arsénico encontradas en las aguas subterráneas es aceptable para que estas aguas se consuman de forma prolongada según los valores de referencia de la OMS. De acuerdo con los cálculos del CR, el 68% de los participantes está en riesgo de desarrollar efectos adversos de largo plazo, mientras que un 81% presenta riesgo de efectos no cancerígenos, como manifestaciones dermatológicas y cardiovasculares debido a la ingesta de agua contaminada.

- La información obtenida de la encuesta revela que la mayoría de los participantes consumen más de 2 litros de agua al día, ya sea en forma directa o en infusiones (mate, té, café), lo que incrementa considerablemente la exposición al arsénico. El tiempo de residencia prolongado en la zona (mediana de 34 años) y el uso continuo del agua subterránea refuerzan el potencial impacto de la exposición crónica a este contaminante.
- Los resultados obtenidos del análisis de las especies toxicológicamente relevantes de arsénico en orina muestran que la mayoría de los participantes presentan niveles significativos en orina y la correlación positiva observada entre el arsénico en orina y el índice de exposición calculado ($\rho = 0,467$, $p < 0,01$) confirma que el agua subterránea es una fuente relevante de exposición al arsénico para esta población.

En este capítulo, el estudio realizado en San Antonio pone de manifiesto la necesidad urgente de implementar estrategias para reducir la exposición al arsénico a través del agua de consumo de esta población afectada. En primer lugar, se realizó la comunicación de riesgo, mediante un conversatorio, donde no solo se invitó a los participantes, sino que además la comunidad entera y algunas de las autoridades locales. Dicho conversatorio fue coorganizado junto a médicos y estudiantes de la Facultad de Química y Medicina. Otras medidas más importantes, deberían incluir la provisión de fuentes alternativas de agua, la utilización de plantas de abatimiento o la expansión de la cobertura de agua potable suministrada por OSE a esta zona rural de San Antonio, de modo que sus habitantes puedan acceder a un suministro de agua aceptable sanitariamente y de calidad.

Capítulo 7. Conclusiones y perspectivas a futuro

En este capítulo se sintetizan las conclusiones extraídas de cada uno de los capítulos anteriores, considerando estas reflexiones como resultados del trabajo de investigación y como base para trabajos venideros, así como las perspectivas a futuro. Se ha considerado importante establecer las fortalezas y debilidades de estos estudios, pero, sobre todo, destacar el aporte al país de los primeros antecedentes de estudios que se presentan el abordaje de esta Tesis.

La combinación de los estudios presentados y ligados entre sí sientan las bases para continuar investigando esta problemática ambiental en Uruguay y que no ha sido considerada como una prioridad de la Salud Pública hasta el momento

7.1. Conclusiones

De las conclusiones parciales establecidas en cada capítulo podemos destacar globalmente que los objetivos generales propuestos originalmente, fueron completamente logrados.

En el estudio del Capítulo 3, se obtuvieron metodologías validadas y disponibles para otros estudios ya que son capaces de determinar arsénico total y sus especies en agua, y verificar si los niveles cumplen con el valor de la OMS. También se obtuvo una la metodología de determinación de arsénico en orina que es apta para realizar el biomonitorio por exposición al contaminante en estudio.

Las metodologías, además de ser útiles para el trabajo de estas Tesis podrán ser utilizadas en otras investigaciones y para servicios de asesoramientos a terceros

Con respecto al segundo objetivo propuesto y haciendo referencia al Capítulo 4, se pudo determinar el nivel de arsénico en aguas subterráneas de diferentes localidades del país, observándose que el 70 % de las muestras analizadas superan el valor guía de la OMS.

Además, en las muestras de agua estudiadas en distintas zonas del país, se identificó la especie de arsénico predominante. Conocer las especies presentes en las muestras de agua permite caracterizar las aguas subterráneas en función de su toxicidad y al mismo tiempo de esta caracterización toxicológica, es fundamental identificar las especies de arsénico para implementar procesos de remediación eficaces.

A partir de los datos recopilados sobre la concentración de arsénico en el agua subterránea, se logró realizar una caracterización de los riesgos para las personas que pudieran consumir esta agua para cumplir con nuestro tercer objetivo. A pesar de que los niveles de arsénico en el agua subterránea no superan ampliamente la normativa nacional UNIT 833:2008, se pudo estimar que, si la personas consumen el agua subterránea por largos períodos de tiempo presentan riesgos a la salud asociados a la exposición al arsénico. Estos riesgos incluyen efectos cancerígenos y/o problemas dermatológicos.

Los resultados de la evaluación de riesgos por exposición al arsénico a través del consumo de agua subterránea contaminada mostraron que los niveles encontrados de arsénico en general **no** son aceptables para las poblaciones que lo consumen tanto para riesgos cancerígenos como no cancerígenos.

Como conclusión del último objetivo planteado, el estudio en la zona rural de San Antonio, Canelones, ha permitido caracterizar y evaluar los niveles de exposición al arsénico en la población a través del consumo de agua de pozos privados. A partir de los análisis físico-químicos y la especiación analítica de las muestras de agua, así como de las determinaciones de arsénico en orina de los participantes, se mostró que **ninguna** de las aguas estudiadas es aceptable frente a los niveles de arsénico presente.

Los resultados obtenidos del análisis de las especies de arsénico toxicológicamente relevantes en orina indican que la mayoría de los participantes presentan exposición al mismo y su correlación moderada con los niveles de arsénico en agua dan indicio de que ésta es la principal fuente de exposición.

El estudio realizado en San Antonio pone de manifiesto la necesidad urgente de implementar estrategias para reducir la exposición al arsénico a través del agua de consumo de esta población.

La primera estrategia que está a nuestro alcance es realizar la Comunicación de Riesgos y poner en conocimiento a las autoridades de la problemática encontrada.

Con las conclusiones antes expuestas, es necesario monitorear de manera continua la calidad del agua subterránea con el fin de garantizar un agua de condiciones sanitarias aceptables a la comunidad que la consume.

7.2. Fortalezas y debilidades

Como principal fortaleza, es fundamental destacar la importancia de los trabajos en colaboración multidisciplinaria. La cooperación entre disciplinas, académicas y no académicas, no solo enriqueció el proceso de investigación, sino que además potenció la capacidad de respuesta ante los desafíos planteados. Esta sinergia permitió abordar problemas complejos desde diversas perspectivas, fomentando soluciones más efectivas y sostenibles.

La participación desinteresada y voluntaria de la comunidad en los estudios realizados es otra gran fortaleza. Por otra parte, el interés de profesionales de la salud en las regiones estudiadas puede enmarcarse en futuras investigaciones.

La principal debilidad ha sido la falta de apoyo interinstitucional para avanzar en más áreas del conocimiento y promover acciones y soluciones al problema ambiental investigado. Asimismo, se constató la carencia de registro de datos armonizados a nivel estatal y la incongruencia de relevamiento de datos de pozos. No obstante, el trabajo se pudo realizar in situ gracias a la cooperación de las organizaciones locales o referentes de la comunidad mencionados en las fortalezas.

7.3. Perspectivas a futuro

El trabajo realizado en esta tesis en San Antonio fue con un número de muestras pequeños, 47 participantes. Tomando como base este trabajo se propone realizar un estudio poblacional, con un número mayor de participantes con el fin de aumentar el peso estadístico. El mismo se realizará en colaboración con profesionales médicos y epidemiólogos, quienes llevarán a cabo anamnesis y evaluaciones clínicas de los participantes. Ya se han establecido contactos con médicos en San Antonio, lo cual permitirá un análisis más profundo de la exposición al arsénico en esta región con una evaluación integral de la salud de las personas involucradas.

Se plantea, asimismo, ampliar el estudio a otras localidades, incluyendo aquellas ya investigadas en esta Tesis, para monitorear cómo varían los niveles de arsénico en función del tiempo y factores climáticos.

Otra propuesta es la de desarrollar una nueva metodología analítica para identificar y cuantificar las especies de manera individual en la orina con el fin de evaluar el grado de metilación del arsénico inorgánico realizando un acople entre una columna de intercambio aniónico y un espectrofotómetro de fluorescencia atómica.

La especiación de arsénico en orina permite identificar y cuantificar individualmente las especies de arsénico presentes (As(III), As(V), MMA, DMA) lo cual permite evaluar cómo ocurre la metabolización de este tóxico en cada organismo. Esto se conoce como el perfil de metilación y sería interesante poder trabajar en este aspecto a futuro.

Dado que la Facultad de Química ya posee un Espectrómetro de Fluorescencia Atómica PERSEE modelo PF-7, recientemente adquirido, sería muy interesante utilizar esta técnica analítica acoplada a la bomba de HPLC usada en esta Tesis. De esta forma, se podría realizar la separación de las especies de arsénico mediante HPLC y acoplar la salida de la bomba con la entrada de equipo de fluorescencia atómica con generación de hidruros. La fluorescencia atómica tiene como gran ventaja lograr generalmente menores límites de detección y cuantificación. Poder separar y cuantificar individualmente cada especie es fundamental para entender los procesos de metilación del arsénico inorgánico que se dan previo a su excreción

en orina. Esta información es especialmente relevante en el contexto uruguayo, donde el monitoreo de especies individuales permitirá evaluar cómo nuestra población metaboliza el arsénico, lo cual varía en función del perfil de metilación de cada individuo. Existen trabajos internacionales que sugieren que los individuos con una mayor capacidad de metilación podrían estar menos propensos a los efectos tóxicos del arsénico (Spratlen, 2017), pero este perfil de "metiladores" no ha sido estudiado en la población de Uruguay, dejando una oportunidad para esta investigación.

Con esta Tesis pudimos mostrar la amplia variedad de capacidades, enfoques y desafíos actuales que se requieren para la investigación sobre el arsénico en Uruguay y que, a nivel global, es necesario continuar estudiando los efectos del impacto del arsénico a bajos niveles, en la salud pública, así como el estudio de la susceptibilidad individual y mejores tecnologías estratégicas de remediación accesibles

Referencias bibliográficas

- Abd Wahil, M. S., Abdul Wahab, A., Ching Mun, W., & Ja'afar, H. (2020). Health Risk Assessment on High Groundwater Arsenic Concentration among Adult and Children in Beranang Subdistrict, Malaysia. *Pertanika Journal. Science & Technology*, 917-935. doi:e-ISSN: 2231-8526
- ACGIH. (2024). TLVs® and BEIs® Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents. Cincinnati: American Conference of Governmental Industrial Hygienists. ISBN: 978-160-7261-66-7.
- Agilent Technologies. (2016). Agilent Vapor Generation Accessory VGA 77 and VGA 77P User's Guide. Técnico, Mulgrave. Recuperado el 2 de abril de 2024, de <https://www.agilent.com/en/product/atomic-spectroscopy/atomic-absorption/atomic-absorption-accessories/vga-77-vapor-generation-accessory>
- Ahmad, A., & Bhattacharya, P. (2019). Arsenic in drinking water: Is 10 µg/L a safe limited? *Current Pollution Reports*, 5(1), 1-3. doi:doi.org/10.1007/s40726-019-0102-7
- Ahmad, A., Cornelissen, E., van de Wetering, S., van Dijk, T., van Genuchten, C., Bundschuh, J., van der Wal, A., & Bhattacharya, P. (2018). Arsenite removal in groundwater treatment plants by sequential ferric treatment. *Journal of Water Process Engineering*, 26, 221–229. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2018.10.014>
- Ahmad, A., Van der Wens, P., Baken, K., De Waal, L., Bhattacharya, P., & Stuyfzand, P. (2020). Arsenic reduction to <1 µg/L in Dutch drinking water. *Environment International*, 1-9. doi:https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105253
- Alvareda, E.; Abelenda, E.; Machado, I.; Bühl, V.; Mañay, N.; Ramos, J.; Gamazo, P. (2023). Advances in improving the knowledge of geogenic arsenic distribution in the Salto aquifers, Uruguay. *Arsenic in the Environment: Bridging Science to Practice for Sustainable Development As2021*, 113-114.

- Álvarez Cáceres, R. (2007). Inferencia estadística: Técnicas de muestreo. En R. Álvarez Cáceres, Estadísticas aplicadas a las Ciencias de la Salud (págs. 219-241). España. doi:ISBN 978-84-7978-823-0
- Amorin, A. (2016). Agilent Technologies, Inc. doi:5991-6509EN
- ANSI/ASB. (2019). Standar Practices for Method Validation in Forensic Toxicology (2019 ed., Vol. 036). Colorado Spring. Recuperado el 21 de junio de 2020, de www.asbstandardsboard.org
- Ardini, F., Dan, G., & Grott, M. (2020). Arsenic speciation analysis of environmental samples. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, DOI: 10.1039/c9ja00333a.
- Área Química Analítica. (2018). Departamento Estrella Campos. Recuperado el 22 de setiembre de 2024, de Química Analítica: <https://dec.fq.edu.uy/quimica-analitica/>
- Asante-Duah, K. (2017). Public Health Risk Assessment for Human Exposure to Chemicals (2da ed., Vol. 27). (J. Trevors, Ed.) Washington, DC, EEUU: Springer. doi:10.1007/978-94-024-1039-6
- ATSDR. (2007). Toxicological Profilefor Arsenic. ATSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, Atlanta. Recuperado el 31 de mayo de 2024, de <https://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp2.pdf>
- ATSDR. (2009). Estudio de Casos en Medicina Ambiental (CSEM). La toxicidad del arsénico. Recuperado el 20 de mayo de 2024, de <https://www.atsdr.cdc.gov/es/csem/arsenic/index.html>
- ATSDR. (2016). Toxicological Profile for Arsenic . Recuperado el 20 de octubre de 2024, de https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/Arsenic_addendum.pdf
- ATSDR. (2022). ATSDR's Substance Priority List. Recuperado el 07 de octubre de 2024, de <https://www.atsdr.cdc.gov/programs/substance-priority-list.html>

- Biswas, S., Mondal, P. C., Pramanik, B., & Debnath, S. (2024). Arsenic Mitigation from Contaminated Ground Water Through Chemical and Biological Processes: A Review. En N. Kumar, M. Z. Hashmi, & S. Wang, *Emerging Contaminants and Associated Treatment Technologies* (págs. 235 - 260). doi:https://doi.org/10.1007/978-3-031-52614-5_12
- Brima, E. I., Jenkis, R. O., & Haris, P. I. (2006). Understanding arsenic metabolism through spectroscopic determination of arsenic in human urine. *Journal of Spectroscopy*, 125-151. doi:<https://doi.org/10.1155/2006/759046>
- Bühl, V., Álvarez, C., Kordas, K., Pistón, M., & Mañay, N. (2015). Development of a Simple Method for the Determination of Toxicologically Relevant Species of Arsenic in Urine Using HG-FAAS. *Environment Pollution and Human Health*, 3(2), 46-51. doi:[10.12691/jephh-3-2-4](https://doi.org/10.12691/jephh-3-2-4).
- Bühl, V., Álvarez, M. C., Torre, M. H., Pistón, M., & Mañay, N. (2018). Biomonitoring of arsenic in woodworkers exposed to CCA and evaluation of other non-occupational sources in Uruguay. *International Journal of Occupational and Environmental Health*, 1-11. doi:<https://doi.org/10.1080/10773525.2018.1425654>
- Bühl, V., Pizzorno, P., Machado, I., Alvareda, E., & Mañay, N. (2023). Private wells in Uruguay: Evaluating groundwater arsenic levels and finding new areas for population's health risks assessment. *Arsenic in the Environment: Bridging Science to Practice for Sustainable Development As2021*, 297-298. doi:[ISBN 978-1-032-32928-4](https://doi.org/10.1007/978-1-032-32928-4)
- Bundschuh, J., Nicolli, H. B., Blanco, M. del C., Blarasarín, M., Farías, S. S., Cumbal, L., Cornejo, L., Acapari, J., Lienqueo, H., Arnas, M., Guérequiz, R., Bhattacharya, P., García, M. E., Quintanilla, J., Deschamps, E., Viola, Z., Castro de Esparza, M. L., Rodríguez, J., Pérez Carrera, J., & Fernández Cirelli, A. (2014). One century of arsenic exposure in Latin America: A review of history and occurrence from 14 countries. *Science of the Total Environment*, 429, 2–35. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.06.024>

- Bundschuh, J., Litter, M. L., Parvez, F., Román-Ross, G., Nicolli, H. B., Jean, J.-S., Liu, C.-W., López, D., Armienta, M. A., Guilherme, L. R. G., Gomez Cuevas, A., Cornejo, L., Cumbal, L., & Toujaguez, R. (2008). Distribución de arsénico en la región sudamericana. En A. Bundschuh & J. Armienta (Eds.), *IBEROARSEN: Distribución del arsénico en las regiones Ibéricas e Iberoamericana* (pp. 137–179). Argentina: CYTED. Recuperado el 29 de febrero de 2024
- Cabrera, S. (2021). Hay 163 lugares del interior donde el agua tiene arsénico: ¿cuáles son y cómo lo solucionará OSE? El PAIS. Recuperado el 23 de febrero de 2024, de <https://www.elpais.com.uy/que-pasa/hay-163-lugares-del-interior-donde-el-agua-tiene-arsenico-cuales-son-y-como-lo-solucionara-ose>
- Cáceres, D. D., Pino, P., Montesinos, N., Atalah, E., Amigo, H., & Loomis, D. (2005). Exposure to inorganic arsenic in drinking water and total urinary arsenic concentration in a Chilean population. *Environmental Research*, 98(2), 151-159. doi:<https://doi.org/10.1016/j.envres.2005.02.007>
- Carrero, P., Malavé, A., Burguera, J. L., Burguera, M., & Rondón, C. (2001). Determination of various arsenic species by flow injection hydride generation atomic absorption spectrometry: investigation of the effects of the acid concentration of different reaction media on the generation of arsines. *Analytica Chimica Acta*, 195-204. doi:[https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)00796-6](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)00796-6)
- Castro de Esparza, M. L. (2006). Presencia de arsénico en el agua de bebida en América Latina y su efecto en la salud pública. *Natural Arsenic in Groundwaters of Latin America*, 1-14. Recuperado el 10 de agosto de 2024
- CDC. (2019). Biomonitoring Data Tables for Environmental Chemicals. Recuperado el 25 de setiembre de 2024, de National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals: <https://www.cdc.gov/exposurereport/report/pdf/Metals%20and%20Metalloids%20NHANES-p.pdf>

- CDC. (2019). National Biomonitoring Program. Recuperado el 7 de Febrero de 2023, de Biomonitoring Summary Arsenic: [/www.cdc.gov/biomonitoring/Arsenic_BiomonitoringSummary.html](https://www.cdc.gov/biomonitoring/Arsenic_BiomonitoringSummary.html)
- CDC. (2024). National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals. Recuperado el 30 de junio de 2024, de Limit of Detection: <https://www.cdc.gov/environmental-exposure-report/php/about-the-data/limit-of-detection.html>
- Collazo Caraballo, M. P., & Montaña Xavier, J. (2012). Agua subterránea. En M. P. Collazo Caraballo, & J. Montaña Xavier, Manual da Agua Subterránea (págs. 17-19). Montevideo: Proyecto Producción Responsable - M.G.A.P. :ISBN: 978-9974-594-09-8
- Davies, B. E., Browman, C., Davies, T. C., & Selinus, E. (2015). Medical Geology: Perspectives and Prospects. En O. Selinus, B. Alloway, J. A. Centeno, R. B. Finkelman, R. Fuge, U. Lindh, & P. Smedley, Essential of Medical Geology (págs. 1-17). Elsevier Academic Press. doi:ISBN: 0-12-636341-2
- Decreto 110/011. (2011). IMPO. Obtenido de Modificación del reglamento Bromatologico Nacional. Aguas: <https://www.impo.com.uy/bases/decretos-reglamento/110-2011/1>
- Dědina, J., & Tsalev, D. L. (1995). Arsenic. En J. Dědina, & D. L. Tsalev, Hydride Generation (Vol. 130, págs. 182-245). West Sussex, England.
- Dědina, J., & Tsalev, D. L. (1995). Hydride Generation. En J. Dědina, & D. L. Tsalev, Hydride generation Atomic Absorption Spectrometry (Vol. 130, págs. 17-50). West Sussex, England.
- EFSA. (2010). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for water. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA), 8(3), 1459-1507. doi:doi:10.2903/j.efsa.2010.1459

- Falchi, L., Pizzorno, P., Iaquina, F., & Cousillas, A. (2018). Relevamiento de la concentración de arsénico total en agua proveniente de varias fuentes en una zona arrocerá del Uruguay. *INNOTEC*(17), 10-17 ISSN 1688-6593
- García, S. I. (2012). Hidroarsenicismo crónico regional endémico argentino. A 100 años de su descubrimiento. *Ciencias e Investigación - Divulgación*, 5-25. Recuperado el 22 de setiembre de 2024, de https://aargentinapciencias.org/wp-content/uploads/2017/11/revista_cei62-3.pdf
- G-EQUAS. (2024). the German External Quality Assessment Scheme. Recuperado el 31 de may de 2024, de <https://app.g-equas.de/web/>
- Giménez-Forcada, E., & Ordoñez Delgado, S. (2019). Geología Médica: ¿un nuevo espacio científico? *Enseñanza de las Ciencias de la Tierra*, 27(2), 140-152. ISSN (edición electrónica): 2385-3484
- Gómez, J. C., & Sciuto, J. (2004). Muestreo. En C. Ketzoian, *Estadística Médica. Conceptos y aplicaciones al inicio de la formación médica*. (1 ed., págs. 195-206). Montevideo: Oficina del Libro FEFMUR. ISBN 9974-31-171-3
- Gorby, M. S. (1998). Arsenic Poisoning. *Clinical Conference - West J Med*, 149, 308-315.
- Guo, T., Baasner, J., & Tsalev, D. L. (1997). Fast automated determination of toxicologically relevant arsenic in urine by flow injection-hydride generation atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 349(1-3), 313-318. doi:[https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(97\)00276-6](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(97)00276-6)
- Hays, S. M., Aylward, L. L., Gagné, M., Nong, A., & Krishnan, K. (2018). Biomonitoring Equivalents for inorganic arsenic. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 58, 1-9. doi:<https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2010.06.002>
- He, L., & Zhang, H. (2018). Kernel K-means Sampling for Nystrom Approximation. *IEEE Transactions on Image Processing*, 27(5), 2108-2120. doi:[10.1109/TIP.2018.2796860](https://doi.org/10.1109/TIP.2018.2796860)

- He, Y., Liu, J., Duan, Y., Yuan, X., Ma, L., Dhar, R., & Zheng, Y. (2023). A critical review of on-site inorganic arsenic screening methods. *Journal of Environmental Sciences*, 125, 453-469. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jes.2022.01.034>
- Hug, M. E., Fahad, S., Shao, Z., Sarven, M. S., Khan, I. A., Alam, M., Saeed, M., Ullah, H., Adnan, M., Saud, S., Cheng, Q., Ali, S., Wahid, F., Zamin, M., Raza, M. A., Saeed, B., Riaz, M., & Khan, W. U. (2020). Arsenic in a groundwater environment in Bangladesh: Occurrence and mobilization. *Journal of Environmental Management*, 15, 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110318>
- Hug, S. J., Winkel, H. E., Voegelin, A., Berg, M., & Johnson, A. C. (2020). Arsenic and Other Geogenic Contaminants in Groundwater – A Global Challenge. *CHIMIA*, 74(7/8), 524-537. doi:[doi:10.2533/chimia.2020.524](https://doi.org/10.2533/chimia.2020.524)
- IARC. (2024). *Agents classified by the IARC*. Recuperado el 24 de febrero de 2024, de <https://monographs.iarc.who.int/agents-classified-by-the-iarc/>
- IC. (2011). *Censo de municipios*. Intendencia de Canelones. Recuperado el 09 de marzo de 2021, de https://www.imcanelones.gub.uy/sites/default/files/pagina_sitio/archivos_adjuntos/censo_municipios.pdf
- IC. (2010). Intendencia de Canelones. Recuperado el 22 de julio de 2024, de <https://www.imcanelones.gub.uy/es/conozca/gobierno/municipios>
- IMGA. (2024). International Medical Geology Association. Obtenido de <https://medicalgeology.org/>
- INE. (2011). Anuario Estadístico Nacional. Recuperado el 22 de octubre de 2024, de Población, por área geográfica y sexo, según departamento: <https://www.gub.uy/instituto-nacional-estadistica/comunicacion/publicaciones/anuario-estadistico-nacional-2023-volumen-n-100/21-informacion-censal-6>

- INUMET. (2024). *Finalizó la sequía meteorológica 2020-2023 en todo el Uruguay*. Instituto Uruguayo de Meteorología. Recuperado el 5 de junio de 2024, de <https://inumet.gub.uy/sala-de-prensa/noticias/finalizo-la-sequia-meteorologica-2020-2023-en-todo-el-uruguay>
- IRIS. (1998). *Arsenic, inorganic*; CASRN 7440-38-2. Recuperado el 21 de Octubre de 2021, de https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/subst/0278_summary.pdf#nameddest=rfd,%201998
- Khaligh, A., Mousavi, H. Z., Shirkhanloo, H., & Rashidic, A. (2015). *Speciation and determination of inorganic arsenic species in water and biological samples by ultrasound assisted-dispersive-micro-solid phase extraction on carboxylated nanoporous graphene coupled with flow injection-hydride generation AAS*. RSC Advances, 1-50. doi:, DOI: 10.1039/C5RA17229B.
- Khansili, N. (2023). Advances in material for colorimetric and fluorescent detection of arsenic. *Biosensors and Bioelectronics*: X, 15, 100410. doi:<https://doi.org/10.1016/j.biosx.2023.100410>
- Lai, V. W.-M., Sun, Y., Ting, E., R. Cullen, W., & Reimer, K. J. (2004). Arsenic speciation in human urine: are we all the same? *Toxicology and Applied Pharmacology*, 3, 297-306. doi:<https://doi.org/10.1016/j.taap.2003.10.033>
- Le, X.-C., Cullen, W. R., & Reimer, K. J. (1994). *Effect of cysteine on the speciation of arsenic by using hydride generation atomic absorption spectrometry*. *Analytica Chimica Acta*, 285(3), 277–285. [https://doi.org/10.1016/0003-2670\(94\)80066-9](https://doi.org/10.1016/0003-2670(94)80066-9)
- Lillo, J. (2008). *Peligros químicos: arsénico de origen natural en las aguas*. Recuperado el 04 de marzo de 2024 de <https://www.ucm.es/data/cont/media/www/pag-15564/Peligros%20geoqu%C3%ADmicos%20del%20ars%C3%A9nico%20-%20Javier%20Lillo.pdf>

- Lindberg, A.-L., Goessler, W., Grandér, M., Nermell, B., & Vahter, M. (2007). *Evaluation of the three most commonly used analytical methods for determination of inorganic arsenic and its metabolites in urine*. Toxicology Letters - Elsevier, 168, 310-318.
- Litter, M. (2018). Arsénico en agua. En E. Abraham, R. D. Quintana, & G. Mataloni, *Agua y Humedales* (págs. 210-2024). Buenos Aires. ISBN: 978-987-4027-68-9
- Litter, M. I., Armienta, M. A., Villanueva Estrada, R. E., Villamil, E. C., & Olmos , V. (2020). *Arsenic in Latin America: Part I*. En S. Srivastava, *Arsenic in Drinking Water and Food* (págs. 71-112). doi:https://doi.org/10.1007/978-981-13-8587-2_4
- Litter, M. I., Farías, S. S., & Armienta, M. A. (2009). *Introducción: metodologías analíticas para determinación y especiación de arsénico*. Buenos Aires: CYTED. doi:ISBN: 978-84-96023-71-0
- Litter, M. I., Ingallinella, A. M., Olmos, V., Savio, M., Difeo, G., Botto, L., Farfán Torres, E. M., Taylor, S., Frangie, S., Herkovits, J., Schalamuk, I., Gonzalez, M. J., Berardozi, E., García Einchlag, F. S., Bhattacharya, P., & Ahmad, A. (2019). Arsenic in Argentina: Occurrence, human health, legislation and determination. *Science of the Total Environment*, 676, 756–766. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.262>
- Lu, P., & Zhu, C. (April de 2011). *Environmental Earth Sciences*, 62, 1673-1683. doi:DOI: 10.1007/s12665-010-0652-x
- Machado, I., Bühl, V., & Mañay, N. (2019, mayo). Total arsenic and inorganic arsenic speciation in groundwater intended for human consumption in Uruguay: Correlation with fluoride, iron, manganese and sulfate. *Science of The Total Environment*, 666, 497–502. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.107>
- Magnusson, B., & Örnemark, U. (2014). Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods (2da ed., Vol. 2). España. Recuperado el 11 de abril de 2024, de https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_ES.pdf

- Manganelli, A., Goso, C., Guerequiz, R., Fernandez Turiel, J. L., García Vallés, M., & Gimeno, D. (2007). Estudio preliminar del contenido de arsénico de las aguas subterráneas del suroeste de Uruguay. *Geogaceta*, 115-118. doi:ISSN: 0213683X
- Mañay, N. (2013). Arsénico y Cadmio. En M. Rojas Martini, *Toxicología ambiental y ocupacional* (págs. 257-276). Bogotá: Universidad del Rosario. doi:ISBN: 978-958-738-406-2
- Mañay, N., Goso, C., Pistón, M., Fernandez-Turiel, J., Garcia-Vallés, M., Rejas, M., & Guerequiz, R. (2013). Groundwater Arsenic Content in Raigón Aquifer System (San Jose, Uruguay). *Revista SUG*(18), 20-38. Recuperado el 02 de setiembre de 2024
- Mañay, N., Pistón, M., Cáceres, M., Pizzorno, P., & Bühl, V. (2019). An overview of environmental arsenic issues and exposure risks in Uruguay. (P. Bhattacharya, Ed.) *Science of the Total Environment*, 686, 590-598. doi:<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.443>
- Marlborough, S. J., & Wilson, V. L. (2015). Arsenic speciation driving risk based corrective action. *Science of the Total Environment*, 520, 253-259. doi:<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.03.037>
- Marschner, K., Musil, S., & Dedina, J. (2016). Achieving 100% Efficient Postcolumn Hydride Generation for As Speciation Analysis by Atomic Fluorescence Spectrometry. *Analytical chemistry*, 88(7), 4041-4047. doi:<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b00370>
- Martinez Ortega, R. M., Tuya Penades, L. C., Martinez Ortega, M., Perez Abreu, A., & Cánovas, A. M. (2009). El coeficiente de correlación de losrangos de Spearman - Caracterización. *Revista Habanera de las las Ciencias Médicas*, VIII(2). Recuperado el 20 de junio de 2024
- McCleskey, R. B., Nordstrom, D. K., & Maest, A. S. (2004). Preservation of water samples for arsenic (III/V) determinations: an evaluation of the literature and new analytical results. *Applied Geochemistry*, 995-1009. doi:10.1016/j.apgeochem.2004.01.003

- MGAP. (2019). *Desarrollo rural*. Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (Dirección General de Desarrollo Rural - MGAP). Recuperado el 8 de febrero de 2024, de <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/comunicacion/convocatorias/agua-para-desarrollo-rural-0>
- MIDES. (2019). Esperanza de vida al nacer según sexo por departamento. Total país. Recuperado el 20 de 02 de 2024, de Ministerio de Desarrollo Social: <https://www.gub.uy/ministerio-desarrollo-social/indicador/esperanza-vida-nacer-segun-sexo-departamento-total-pais>
- MSP. (2009). *Ordenanza 145/09*. Ministerio de Salud Pública. Recuperado el 31 de enero de 2022, de <https://www.gub.uy/ministerio-salud-publica/institucional/normativa/ordenanza-n-145009-ordenanza-14509>
- Ministerio de Ambiente. (2022). Visualizador de Mapas. Obtenido de <https://www.ambiente.gub.uy/visualizador/index.php?vis=sig#>
- Molina Arias, M. (2017). *¿Qué significa realmente el valor de p?* Revista de Pediatría de Atención Primaria, 377 - 381. doi:<https://scielo.isciii.es/pdf/pap/v19n76/1139-7632-pap-21-76-00377.pdf>
- Mukherjee, A., Coomar, P., Sarkar, S., Johannesson, K. H., Fryar, A. E., Schreiber, M. E., Ahmed, K. M., Alam, M. A., Bhattacharya, P., Bundschuh, J., Burgess, W., Chakraborty, M., Coyte, R., Farooqi, A., Guo, H., Ijumulana, J., Jeelani, G., Mondal, D., Nordstrom, D. K., Podgorski, J., Polya, D. A., Scanlon, B. R., Shamsudduha, M., Tapia, J., & Vengosh, A. (2024). Arsenic and other geogenic contaminants in global groundwater. *Nature Reviews Earth and Environment*, 5, 312–328. <https://doi.org/10.1038/s43017-024-00519-z>
- National Center for Health Statistics. (2024). *National Health and Nutrition Examination Survey*. Recuperado el 20 de octubre de 2024, de <https://www.cdc.gov/nchs/nhanes/index.htm>

- Navoni, J. A., De Pietri, D., Garcia, S., & Villamil Lepori, E. C. (2012). Riesgo sanitario de la población vulnerable expuesta al arsénico en la provincia de Buenos Aires, Argentina. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 31(1), 1-8. Recuperado el 02 de julio de 2024
- Navoni, J. A., De Pietri, D., Olmos, V., Gimenez, C., Bovi Mitre, G., de Titto, E., & Villamil Lepori, E. (2014). Human health risk assessment with spatial analysis: Study of a population chronically exposed to arsenic through drinking water from Argentina. *Science of the Total Environment*, 499, 166-174. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.08.058>
- Navoni, J. A., Olivera, N. M., & Villaamil Leoperi, E. C. (2009). Optimización y validación metodológica de la cuantificación de arsénico por inyección en flujo-generación de hidruros- espectrometría de absorción atómicas (IF-GH-EAA) previa derivatización con L-Cisteína. *Acta Toxicología Analítica*, 17(2), 48-54. Recuperado el 12 de diciembre de 2023
- O'Reilly, J., Watts, M. J., Shaw, R. A., Marcilla, A. L., & Ward, N. L. (2010). Arsenic contamination of natural waters in San Juan and La Pampa, Argentina. *Environmental Geochemistry and Health*, 32, 491-515. doi:DOI 10.1007/s10653-010-9317-7
- Observatorio Ambiental Nacional. (2022). OAN. Obtenido de <https://www.ambiente.gub.uy/oan/detalle-de-metadato/?idm=103>
- OMS. (2017). *Herramienta de evaluación de riesgos para la salud humana de la OMS: Peligros químicos*. Organización Mundial de la Salud. Recuperado el 10 de marzo de 2021, de <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/255613/9789243548074-spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- OMS. (2018). *Guías para la calidad del agua de consumo humano: Cuarta edición que incorpora la primera adenda* (O. M. Salud, Ed.). ISBN: 978-92-4-354995-8.

- OMS. (2021). Kit de herramientas de la OMS para la evaluación de riesgos que afectan a la salud humana: peligros químicos: Organización Mundial de la Salud. Recuperado el 09 de agosto de 2024, de <https://www.who.int/es/publications/i/item/9789240035720>
- OMS. (2022). *Arsénico*. Organización Mundial de la Salud. Recuperado el 25 de febrero de 2024 de: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/arsenic>
- OSE. (2022). *AGUA – Agua subterránea*. Obras Sanitarias del Estado. Recuperado el 20 de septiembre de 2024, de <http://www.ose.com.uy/agua/agua-subterranea>
- OSE. (2024). *AGUA - Abastecimiento*. Obras Sanitarias del Estado. Obtenido de <http://www.ose.com.uy/agua>
- Othax, N., Peluso, F., Gonzalez Castelain, J., Masson, I., & Dubny, S. (2019). Evaluación de riesgo a la salud y contaminantes en el agua de bebida. Importancia de la ingesta de agua. *Acta de Toxicología Argentina*, 19-29. Recuperado el 02 de julio de 2024
- Pamoukaghlián, K., Collazo, P., Mañay, N., & Alvareda, E. (2023). Report about advances and challenges during the first steps of the project: “Arsenic in Uruguayan groundwater and associated health risk”. *Arsenic in the Environment: Bridging Science to Practice for Sustainable Development As2021*, 295-296. doi:ISBN:9781003317395
- Pincetti-Zúniga, G. P., Richards, L. A., Daniele, L., Boyce, A. J., & Polya, D. A. (2022). Hydrochemical characterization, spatial distribution, and geochemical controls on arsenic and boron in waters from arid Arica and Parinacota, northern Chile. *Science of the Total Environment*, 806, 1-16. doi:<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150206>
- Pineda, E. B. (1994). VI. 4 Universo y muestra. En F. H. Canales, E. L. de Alvarado, & E. B. Pineda, *Manual para el desarrollo de personal de la salud* (págs. 108-1023). Washington, D.C. doi:ISBN 92 75 32135 3

- Pizzorno, P., Falchi, L., Mañay, N., Piston, M., & Bühl, V. (2021). Evaluación de niveles de arsénico y sus especies en aguas subterráneas uruguayas; un aporte de la Química Analítica a la Toxicología Ambiental. XXII Congreso Argentino de Toxicología, 29 Suplemento, pág. 53. Buenos Aires. Recuperado el 2 de Setiembre de 2024
- Pizzorno, P., Bühl, V., & Mañay, N. (2021). Human health risk assessment by exposure to arsenic through groundwater in a rural area of Canelones, Uruguay. *Environmental Health Perspectives*, 1. <https://doi.org/10.1289/isee.2021.P-430>
- Pizzorno, P., Falchi, L., Mañay, N., Pistón, M., & Bühl, V. (2023). A simple method for the determination of toxicologically relevant arsenic species in urine by hydride generation microwave-induced plasma optical emission spectrometry for health risk assessment. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 201, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2023.106630>
- Polya, D. A., & Middleton, D. R. (2017). Arsenic in drinking water: sources & human exposure. En P. Bhattacharya, D. A. Polya, & D. Jovanovic, Best Practice Guide on the Control of Arsenic in Drinking Water, (págs. 1-23). doi:DOI: 10.2166/9781780404929_001
- Ramírez, A. V. (2013). Exposición ocupacional y ambiental al arsénico. Actualización bibliográfica para investigación científica. *Anal Facultad de Medicina*, 74(3), 237-247. Recuperado el 02 de setiembre de 2024
- Rice, E., Baird., R., Eaton, A., & Clesceri, L. (2012). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewaters. En A. P. ASSOCIATION, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewaters (págs. 3-34, 3-39). Washington . Recuperado el 07 de diciembre de 2023
- RSA-CONICET. (2018). Arsénico En Agua - Informe Final -. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Red de Seguridad Alimentaria, Buenos Aires. Recuperado el 07 de diciembre de 2023, de <https://rsa.conicet.gov.ar/wp-content/uploads/2018/08/Informe-Arsenico-en-agua-RSA.pdf>

- ESA. (2016). *La evaluación de riesgos en salud: Guía metodológica. Aplicaciones prácticas de la metodología de evaluación de riesgos en salud por exposición a químicos* (Vol. 3). (S. E. Pública, Ed.). Madrid. ISBN: 978-84-617-6362-7.
- Shaji, E., Santosh, M., Sarath, K. V., Prakash, P., Deepchand, V., & Divya, B. V. (2021). Arsenic contamination of groundwater: A global synopsis with focus on the Indian Peninsula. *Geoscience Frontiers*, 12(3), 1-18. doi:<https://doi.org/10.1016/j.gsf.2020.08.015>
- Sigrist, M. (2009). Metodologías combinadas de análisis en línea. Estudios de especiación de arsénico inorgánico en aguas subterráneas. Tesis de Doctorado , Buenos Aires. Recuperado el 11 de abril de 2024
- Sigrist, M., Albertengo, A., Brusa, L., Beldoménico, H., & Tudino, M. (2014). Distribution of inorganic arsenic species in groundwater from Central-West Part of Santa Fe Province, Argentina. *Applied Geochemistry*, 43-48. doi:<https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2013.09.018>
- Silva, J., & Ciminelli, V. (2009). Tratamiento de las muestras de agua, suelos y sedimentos para determinación de arsénico. En M. Litter, M. Armienta, S. Farias, & CYTED (Ed.), *IBEROARSEN Metodologías analíticas para la determinación y especiación de arsénico en aguas y suelos* (págs. 29-39). Buenos Aires, Argentina. doi:ISBN: 978-84-96023-71-0
- Smedley, P., & Kinniburgh, D. G. (2015). Arsenic in Groundwater and the environmental. En O. Selenius, *Essential of Medical Geology* (págs. 263-299). Recuperado el 02 de setiembre de 2024
- Spratlen, M. J., Gamble, M. V., Grau-Perez, M., Kuo, C.-C., Best, L. G., Yracheta, J., Francesconi, K., Goessler, W., Massavar-Rahmani, Y., Hall, M., Umans, J. G., Fretts, A., & Navas-Acien, A. (2017). Arsenic metabolism and one-carbon metabolism at low-moderate arsenic exposure: Evidence from the Strong Heart

Study. *Food and Chemical Toxicology*, 108, 387–397.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.05.004>

Strambini, M. V. (2023). Vulnerabilidad y caracterización hidrogeoquímica de las aguas subterráneas de la Cuenca del Arroyo San Pedro y Cuenca del Arroyo de la Caballada, San Pedro, Colonia. Tesis de grado para Licenciatura en Geología, Montevideo. Recuperado el 07 de 05 de 2024

SWGTOX, S. W. (2013). Standard Practices for Method Validation in Forensic Toxicology. *Journal of Analytical Toxicology*, 37(3), 452-474. doi:
<https://doi.org/10.1093/jat/bkt054>

Templeton, D. M., Ariese, F., Cornelis, R., Danielsson, L.-G., Muntau, H., Van Kleeuwen, H. P., & Lobinski, R. (2000). Guidelines For Terms Related To Chemical Speciation And Fractionation Of Elements. Definitions, Structural Aspects, And methodological Approaches. *Pure Appl. Chem.*, 72(8), 1453-1470. Recuperado el 22 de diciembre de 2023

Terlecka, E. (2005). Arsenic speciation analysis in water samples: a review. *Environmental Monitoring and Assessment*, 259-298. doi:<https://doi.org/10.1007/s10661-005-3109-z>

Uddin Kamal, M., & Miah, Y. M. (2021). Arsenic Speciation Techniques in Soil Water and Plant: An Overview. En *IntechOpen* (págs. 1-32). Gazipur,. doi:<http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.99273>

Ungureanu, G., Santos, S., Boaventura, R., & Botelho, C. (2015). Arsenic and antimony in water and wastewater: Overview of removal techniques with special reference to latest advances in adsorption. *Journal of Environmental Management*, 326-342. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.12.051>

UNIT 833:2008. (2010). *Agua potable - Requisitos* [Norma técnica]. Montevideo. Recuperado el 2 de febrero de 2024.

- USEPA. (Diciembre de 1989). EPA United State Environmental Protection Agency. doi:EPA/540/1-89/002
- USEPA. (2004). *Risk assessment guidance for Superfund Volume I: Human health evaluation manual (Part E, Supplemental guidance for dermal risk assessment)* [Guía]. USEPA, Office of Superfund Remediation and Technology Innovation, Washington, DC. Recuperado el 27 de febrero de 2024, de <https://www.epa.gov/risk/risk-assessment-guidance-superfund-rags-part-e>
- USEPA. (2007). *National primary drinking water regulations* [Informe]. [https://doi.org/EPA 816-F-07-002](https://doi.org/EPA%20816-F-07-002)
- USEPA. (2008). *Child-specific exposure factors handbook* [Informe]. Recuperado el 15 de marzo de 2024, de U.S. Environmental Protection Agency: <https://cfpub.epa.gov/ncea/risk/recordisplay.cfm?deid=199243>
- SEPA. (2011). *Age dependent adjustment factor (EAF) application Office of Water policy document* [Reporte técnico]. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC. Recuperado el 20 de febrero de 2024, de https://hero.epa.gov/hero/index.cfm/reference/details/reference_id/783747
- USEPA. (2022). *Conducting a human health risk assessment*. Recuperado de <https://www.epa.gov/risk/conducting-human-health-risk-assessment>
- USEPA; IRIS. (2002). *IRIS, 4*. Recuperado el 26 de febrero de 2024, de Integrated Risk Information System (IRIS). Chemical Assessment Summary: https://iris.epa.gov/ChemicalLanding/&substance_nmbr=278
- Varcárcel, M., & Gomez Hens, A. (2003). *Hibridación instrumental en técnicas analíticas de separación*. Barcelona: Reverté. Recuperado el 10 de octubre de 2024
- Wade, T. J., Xia, Y., Mumford, J., Wu, K., Le, X. C., Sams, E., & Sanders, W. E. (2015). Cardiovascular disease and arsenic exposure in Inner Mongolia, China: a case control study. *Environmental Health*, 14(35), 1-10. doi:DOI 10.1186/s12940-015-0022-y

WHO. (1993). Guidelines for drinking-water quality. Geneva: World Health Organization.
ISBN 92 4 154460 0

WHO. (2017). *Guidelines for drinking-water quality: Fourth edition incorporating the first addendum* [Informe]. Ginebra. Recuperado de <https://www.who.int/es/publications/i/item/9789241549950>

Wu, R., Alvareda, E. M., Polya, D. A., Blanco, G., & Gamazo, P. (2021). Distribution of Groundwater Arsenic in Uruguay Using Hybrid Machine Learning and Expert System Approaches. *Water*, 13(527), 1-17. doi:<https://doi.org/10.3390/w13040527>

Yu, H., Li, C., Tian, Y., & Jiang, X. (2020). Recent developments in determination and speciation of arsenic in environmental and biological samples by atomic spectrometry. *Microchemical Journal*, 152, 1-14. doi:<https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104312>

Apéndices

Apéndice 1: Protocolo de toma de muestras de agua subterránea de consumo para análisis de especies de arsénico inorgánico.

Apéndice 2: Encuesta orientada a la población para el Proyecto Colonia

Apéndice 3: Plan de muestreo para el Proyecto San Antonio

Apéndice 4: Toma de muestra para la determinación de especies toxicológicamente relevantes en orina

Apéndice 5: Planilla de muestreo para recoger datos para el Proyecto San Antonio

Apéndice 6: Hoja informativa

Apéndice 7: Consentimiento informado

Apéndice 8: Encuesta orientada para el estudio poblacional

Apéndice 9: Artículos publicados en revistas referadas

Apéndice 10: Presentaciones en Congresos

Apéndice 11: Premios obtenidos

Apéndice 1. Protocolo de toma de muestras de agua subterránea de consumo para análisis de especies de arsénico inorgánico.

El objetivo del muestreo es recoger una muestra de agua, representativa para el análisis, de forma que el resultado obtenido proporcione un diagnóstico real del universo investigado (Litter, Farías, & Armienta, 2009).

Reactivos, Materiales y Equipos:

- Envases de polietileno con un volumen mayor o igual 50 mL limpios y con buen cierre.
- Elementos para rotulación
- Planilla de registros
- Vaso de Bohemia
- Medidor multiparámetro
- GPS

Procesos prácticos

En el laboratorio

- Lavar los envases con agua tipo III (RO).
- Enjuagar tres veces con agua ultrapura.

En campo

- Rotular los envases.
- Enjuagar tres veces el envase con la fuente de agua que se va a muestrear, desechando el agua de enjuague. Si no se pudo lavar previamente en el laboratorio, enjuagar el envase más veces con el agua a muestrear y anotar en la planilla.
- Recoger la muestra sin dejar cámara de aire.

- Cerrar el envase asegurando su cierre hermético.
- Tomar una muestra en el vaso de bohemia enjuagado previamente con agua de pozo para utilizar el medidor multiparámetro.
- Tomar las coordenadas del pozo y tomar foto o anotaciones de relevancia respecto a las condiciones circundantes (limpieza del terreno, condiciones del pozo, etc).
- Anotar toda la información pertinente en la planilla de registros. Si se tienen valores de otros parámetros medidos en campo anotarlos en la planilla (pH, conductividad, etc).
- Almacenar en conservadora con geles refrigerantes.
- Guardar en heladera y llevar al laboratorio lo antes posible.

Precauciones a tener en cuenta.

Agua de red

Para la toma de una muestra de agua de red se abrirá la canilla y se dejará que el agua corra el tiempo suficiente para purgar la cañería. (Mínimo 2 L de agua).

Agua de Perforaciones o Pozos

La muestra se debe tomar de la cañería inmediata al pozo y es conveniente que, antes de proceder a la toma de la muestra, la impulsión se mantenga en marcha el tiempo suficiente (Mínimo 5 min) que contemple la profundidad del pozo.

Muestra	Fecha de toma de muestra	Lugar de toma de muestra	Origen de la muestra (Pozo, grifo, cañería)	Parámetros medidos en campo	Observaciones (ej si es filtrada)

Apéndice 2. Encuesta orientada población proyecto Colonia

Encuesta breve para San Pedro

Participante N°:

Pozo al que se asocia

Datos personales

Apellido:	
Nombre:	
Sexo:	
Fecha de Nacimiento:	
¿Desde cuándo vive aquí?	
Peso corporal:	

Alimentación

¿Qué tipo de agua bebe?	Pozo	OSE	Embotellada
Si usa el pozo para beber, ¿desde cuándo lo consume?			
¿Cuánta agua bebe por día sin tener en cuenta mate, té o café?			
Si el agua es embotellada ¿qué marca utiliza?			

¿Toma mate?	Si	No	
¿Qué tipo de agua utiliza para preparar mate?	Pozo	OSE	Embotellada
¿Cuánta mate bebe por día?			

¿Toma Té y/o café?	Si	No	
¿Qué tipo de agua utiliza para preparar te o café?	Pozo	OSE	Embotellada
¿Cuánta té y café bebe por día?			

¿Qué tipo de agua utiliza para cocinar?	Pozo	OSE	Embotellada
Si usa el pozo para cocinar, ¿desde cuándo lo usa?			

Otros

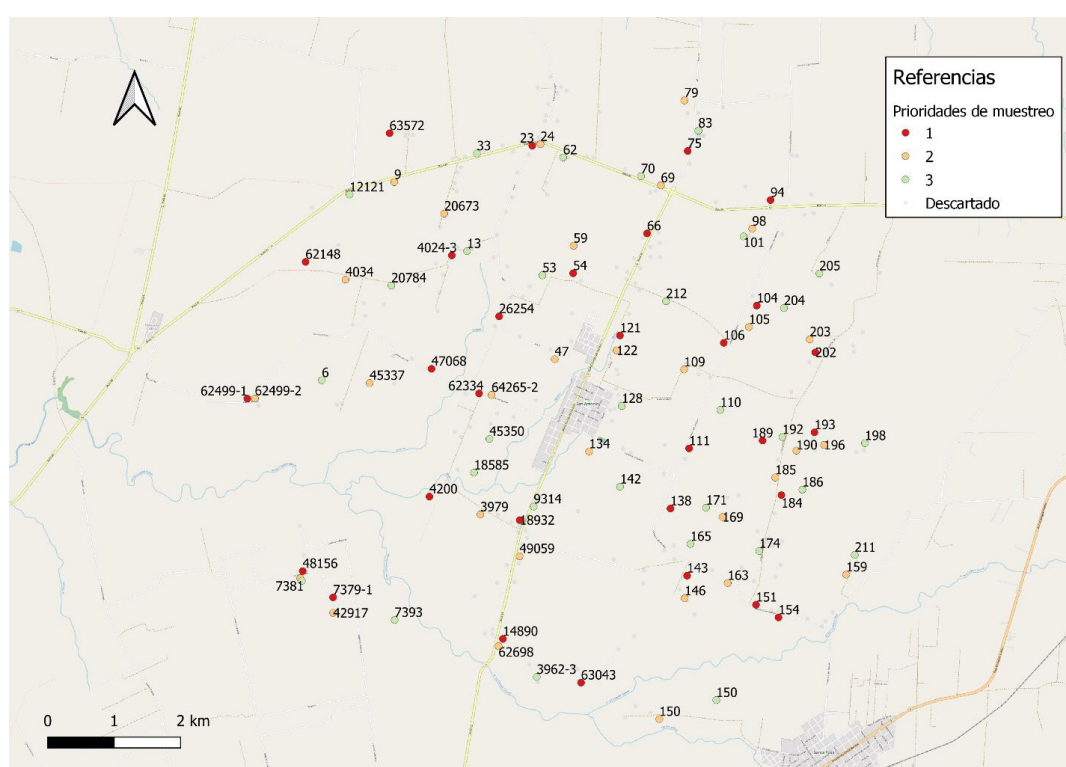
¿Utiliza filtros para el consumo de agua?	Si	No
---	----	----

Apéndice 3. Plan de muestreo para el Proyecto en San Antonio

A continuación, se presenta el plan de muestreo escrito previo a la realización del estudio poblacional.

Plan de muestreo

Se realizará un muestreo por conglomerados aleatorio, donde cada muestra y sus suplentes fueron elegidas al azar. Las mismas están detalladas según el documento interno Excel llamado “Muestreo MG”.



Casas posibles de ser muestreadas

Se define que por cada pozo que se va a muestrear se deberá obtener al menos una orina, si no hay voluntarios para dar la muestra de orina se pasa al pozo suplente (ver lista en Excel-Muestreo MG).

Por cada pozo se obtienen tantas muestras de orina como voluntarios mayores de edad estén interesados.

En caso de que el lugar elegido para muestras presente agua de OSE se toma la muestra, se toman las muestras de orinas correspondientes y también se va a tomar su suplente. (Se busca tener 30 muestras de pozo, pero no se desechan muestras de OSE que puedan servir como control) De la misma manera se actuará si hay pozos, pero las aguas no son usadas para tomar, o si la persona consume agua que no es de pozo para tomar.

Cuando ninguno de los 3 lugares seleccionados pueda ser muestreado se elegirá otro lugar dentro del mismo conglomerado.

Si dentro del conglomerado no hay lugares para muestrear, se elegirá un pozo de otro conglomerado pero que sea el más cercano geográficamente.

Las muestras de agua serán tomadas y refrigeradas, según: “Protocolo de toma de muestras de agua subterránea de consumo para análisis de especies de arsénico inorgánico” Apéndice 1.

En el lugar:

- Se comunicará a los participantes en qué consiste la investigación y se entregará una hoja informativa
- Se informará que para participar del estudio deberá firmar un consentimiento informado. En caso de no firmarlo no podrá ser partícipe de la investigación
- Se medirá con un medidor de campo
 - pH
 - Potencial Redox (ORP)
 - Conductividad
 - Salinidad
 - Sólidos totales disueltos
 - Temperatura
- Se tomarán las coordenadas del lugar.

Todos los datos serán anotados en la planilla de muestreo – Proyecto San Antonio

- Se realizará una encuesta orientada (Apéndice 8 - Encuesta Orientada estudio poblacional)

Para el laboratorio:

- Se tomarán muestras en 4-tubos Falcon
 - Canilla de la cocina (donde la gente saca el agua para beber)
 1. Canilla (para As total y sus especies) **tubo A**
 2. Canilla (respaldo) **tubo B**
 - Directo del pozo
 1. Pozo (análisis de As total y sus especies) **tubo C**
 2. Pozo (análisis de cloruro, fluoruro, sulfato y nitrato) **tubo D**

Si no hay canilla directa del pozo se utilizará solo 3 tubos Falcon idénticos de la canilla de la cocina.

Si no hay canilla de la cocina se utilizará solo 3 tubos Falcon idénticos directo de la canilla del pozo

- 1-Botella de 250 mL con ácido nítrico 0,3 % v/v de la canilla del pozo. Si no hay canilla en el pozo se sacará de la canilla de la cocina.
 - Para determinación de elementos mayoritarios (Na, Ca, K, Mg, Mn)
frasco F
- 1 frasco de orina por adulto participante

La orina se tomará (ver protocolo de Apéndice 4) el día que se tome la muestra de agua y se realizará la medida de creatinina para decidir si es una muestra apta o no. Si los valores de creatinina están fuera de rango 0,3 – 3,0 g L⁻¹ la muestra no se considera apropiada para el biomonitoreo.

Apéndice 4. Toma de muestra para la determinación de especies toxicológicamente relevantes en orina

El presente apéndice describe las especificaciones para la toma de muestra de orina para la determinación de las especies toxicológicamente relevantes.

Toma de muestra:

- La persona debe tener por lo menos 2 horas de no micción antes de la toma de muestra.
- Se debe utilizar en frasco de primer uso (los comunes utilizados para análisis clínicos)
- A los efectos de evitar la contaminación de la muestra, se recomienda el lavado de manos con agua y jabón, no tocar el frasco ni la tapa en su interior y descartar la primera fracción de orina. Tomar un mínimo de 25 mL de orina
- No se adiciona conservadores a las muestras y además se realizará la determinación de concentración de creatinina urinaria entre 0,3 y 3,0 g L⁻¹ como criterio de inclusión de la muestra (ACGIH, 2024).

Acondicionamiento de la muestra:

- Las muestras deben ser perfectamente rotuladas en forma indeleble.
- Las muestras deben ser refrigeradas y mantenidas en esas condiciones para su traslado (en conservadora y con geles).
- En el laboratorio se almacenan a -5 °C.

“Encontrar una cantidad medible de arsénico en la orina no implica que el nivel de arsénico cause un efecto adverso para la salud. Los estudios de biomonitoreo del arsénico urinario pueden proporcionar a los médicos y funcionarios de salud pública valores de referencia para que puedan determinar si las personas han estado expuestas a niveles más altos de arsénico que los encontrados en la población general. Los datos de biomonitoreo también pueden ayudar a los científicos a planificar y realizar investigaciones sobre la exposición y los efectos en la salud” (CDC, 2019).

Apéndice 5. Planilla de muestreo para recoger datos Proyecto San Antonio

Planilla de muestreo – Proyecto San Antonio

Fecha:

N° Pozo

Muestras				
A			Orina	N° Participante
B				
C				
D				
E				
F				

Multiparámetros			
pH		TDS(ppt)	
Ev (mV)		Salinidad (ppt/%)	
Conductividad (mS)		Temperatura (°C)	
Resistividad (mΩ)			

Observaciones:

Técnicos:

ORP: Potencial de óxido-reducción

TDS: Sólidos disueltos totales

Apéndice 6. Hoja informativa



HOJA INFORMATIVA

El arsénico es un elemento que está ampliamente difundido en el ambiente, la exposición al arsénico se considera un serio problema de salud pública en muchos países del mundo, dado que puede producir efectos adversos en la salud humana a bajos niveles de exposición.

Se conoce que existen efectos cancerígenos y lesiones en la piel en poblaciones de muchos países del planeta expuestas al arsénico en el agua subterránea utilizada para consumo doméstico.

Este trabajo se enmarca en el proyecto de tesis de doctorado de la estudiante Paulina Pizzorno que en el avance de la investigación ha desarrollado tecnologías analíticas viables en el país para evaluar y controlar la exposición a las especies tóxicas del arsénico en poblaciones vulnerables.

En esta investigación se plantea profundizar en el conocimiento sobre el riesgo de exposición crónica al arsénico a través del agua de consumo, siendo esta la principal fuente de exposición ambiental al arsénico.

Los niveles de arsénico en el agua se podrían correlacionar con los niveles de arsénico en orina. De esta manera se realizará la evaluación del riesgo de exposición al mismo a través del agua de consumo.

Los resultados finales del proyecto serán presentados a la comunidad al finalizar la investigación.



Apéndice 7. Consentimiento informado

Participante N°: _____

CONSENTIMIENTO INFORMADO POR ESCRITO

Lugar: _____

Fecha: _____

Yo, Sr/Sra _____ CI _____

Doy mi pleno consentimiento, de manera libre, para participar en el proyecto de investigación “Evaluación de riesgos a la salud por exposición al arsénico a través del agua”, a cargo de la estudiante de posgrado Paulina Pizzorno habiendo sido informado/a de los alcances del mismo.

He sido invitado/a participar y se me realizará una encuesta por parte de integrantes del equipo investigador.

He comprendido que la investigación es una contribución para conocer y generar el conocimiento sobre los niveles de este tóxico ambiental, y entiendo que los datos serán tratados en forma estadística, por lo que se mantendrá mi identidad en forma confidencial. Asimismo, que será un importante aporte a la ciencia y a la mejora de las condiciones de salud ambiental en Uruguay.

Estoy de acuerdo en que se tomen registros de los datos para ser utilizados en dicha investigación y en suministrar muestras orina y agua de consumo por una única vez, para que se realicen los estudios de laboratorio. Las muestras van a quedar van a quedar bajo responsabilidad del equipo de investigación.

Doy mi permiso para que los registros sean utilizados por el equipo de investigación para generar publicaciones y recomendaciones específicas de salud, entendiendo que la información que pudiera identificarme será utilizada en forma confidencial.

He leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio y he recibido suficiente información sobre el mismo.

Comprendo que mi participación es voluntaria y gratuita, y presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Sé que puedo retirar mi consentimiento en cualquier fase del procedimiento y las muestras serán destruidas al firmar el desistimiento.

Nombre y Apellidos (participante):

Firma del participante:

Confirmando que he explicado al participante el carácter y el propósito del proyecto de investigación.

Entrega muestra de Orina	Si	No
Entrega muestra de agua	Si	No

Firma del investigador:

Deseo desistir de la investigación

Fecha

Firma del participante:

Apéndice 8. Encuesta Orientada estudio poblacional

Encuesta

Participante N°:

Datos personales

Apellido:

Nombre:

Sexo:

F

M

Fecha de Nacimiento:

CI:

Domicilio:

Departamento:

¿Desde cuándo vive aquí?

Correo:

Teléfono:

Ocupación:

Peso corporal:

Donde usted vive

¿Hay fábricas o establecimiento
industrial-agrícola próximo?

Si

No

¿Cuál es?

Alimentación

¿Come Pescado?

Si

No

¿Con qué frecuencia semanal?			
¿Consumió pescado en la última semana?	Si	No	
¿Come Mariscos?	Si	No	
¿con qué frecuencia semanal?			
¿Consumió pescado en la última semana?	Si	No	
¿Come Carnes rojas?	Si	No	
¿Con qué frecuencia semanal?			
¿Come Aves (pollo)?	Si	No	
¿Con qué frecuencia semanal?			
Cereales	Si	No	
¿Cuál es el principal cereal? Arroz, Polenta, otro			
¿Con qué frecuencia semanal?			
¿Qué tipo de agua bebe?	Pozo	OSE	Embotellada
¿Cuánta agua bebe por día? En litros			
Si es agua es embotellada ¿qué marca utiliza?			
¿Qué tipo de agua utiliza para cocinar?	Pozo	OSE	Embotellada
¿Utiliza filtros para el consumo alimentario?	Si	No	

Consumo Infusiones (Te, café mate)

¿Toma mate?	Si		No
¿Qué tipo de agua utiliza para preparar mate?	Pozo	OSE	Embotellada
¿Cuánta mate bebe por día? En litros			

¿Toma Té y/o café?	Si		No
¿Qué tipo de agua utiliza para preparar te o café?	Pozo	OSE	Embotellada
¿Cuánta té y café bebe por día? En litros			

Si utiliza agua de pozo responda las siguientes preguntas

Características del pozo donde se consume el agua

¿Qué tipo de pozo es?	Brocal/semisurgente/otro		
¿Qué profundidad tiene?			
¿En qué año fue construido?			
¿Desde cuándo se utiliza el agua de este pozo?			
¿además del uso doméstico en que más lo usa?	Riego	Agricultura	Ganadería
Ubicación (coordenadas)			
Pozo número			

¿Cómo calefacciona su casa?

Leña	Si	No
------	----	----

Eléctrica	Si	No
Kerosene / supergas	Si	No
Otros	Si	No

Hábitos

Tabaco

Fumador	Si	No
Ex fumador (más de 1 año)	Si	No

Si es fumador

¿Cuántos años hace que fuma?	
¿Cuántos cigarrillos por día?	
¿Fuma en el hogar?	

Si es ex-fumador (más de 1 año)

¿Cuántos años hace que dejo?	
¿Cuántos cigarrillos por día fumaba?	
¿Durante cuántos años fumo?	

Consumo de alcohol

¿Consume bebidas alcohólicas durante las comidas o en su tiempo libre?	Si		No	
¿Con que frecuencia?	Todos los días		Fin de semana	Algunas ocasiones
¿Qué tipo de bebidas son las más frecuentes?	Vino	Cerveza	Whisky	Otras
Otros	Si		No	

Salud

¿Padece alguna enfermedad como problemas en la piel, diabetes, cáncer o problemas cardiovasculares?	Si	No
---	----	----

Apéndice 9. Artículos publicados en revistas referadas

- **"Determination of toxicological relevant arsenic species in urine by hydride generation microwave-induced plasma optical emission spectrometry."** Pizzorno, P., Falchi, L., Mañay, N., Pistón, M., Bühl, V. (2024). *MethodsX*, Volume 13, Article 102893, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2024.102893>
- **"A simple method for the determination of toxicologically relevant arsenic species in urine by hydride generation microwave-induced plasma optical emission spectrometry for health risk assessment."** Pizzorno, P., Falchi, L., Mañay, N., Pistón, M., Bühl, V. (2023). *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, Volume 201, Article 106630, March 2023. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2023.106630>
- **"Arsénico en agua subterránea de Uruguay y riesgo a la salud asociado: resultados preliminares"** Paula Collazo, Karina Pamoukaghlian; Valery Bühl, Paulina Pizzorno, Nelly Mañay. *Revista Latinoamericana de Hidrogeología, Asociación Latinoamericana de Hidrología Subterránea para el Desarrollo (ALSUHD)* p.:44 - 45, octubre de 2020. <https://alhsudchile.files.wordpress.com/2018/11/alhsud-octubre-2020.pdf>
- **Relevamiento de la concentración de arsénico total en agua proveniente de varias fuentes en una zona arrocerá del Uruguay.** Lucia Falchi, Paulina Pizzorno, Fiorella Iaquina, Adriana Cousillas. Innotec (En línea), p:10 - 17, 2018 *Revista del laboratorio tecnológico del LATU* <http://ojs.latu.org.uy/index.php/INNOTECH/issue/view/40?fbclid=IwAR1jSgGOARJOffqiMz3yJQCb-KgXdkPa1cCi>
- **An overview of environmental arsenic issues and exposure risks in Uruguay.** N. Mañay, M. Pistón, M. Cáceres, P. Pizzorno, V. Bühl. *Science of the Total Environment* 686 (2019) p: 590–598 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.443>



Determination of toxicological relevant arsenic species in urine by hydride generation microwave-induced plasma optical emission spectrometry[☆]



Paulina Pizzorno^{a,b,c}, Lucía Falchi^b, Nelly Mañay^a, Mariela Pistón^d, Valery Bühl^{b,d,*}

^a Centro Especializado en Química Toxicológica (CEQUIMTOX), Toxicology Area, DEC, Facultad de Química, Universidad de la República, Gral. Flores 2124, Montevideo, Uruguay

^b Grupo de Bioanalítica y Especiación (BIOESP), Analytical Chemistry Area, Facultad de Química, Universidad de la República, Gral. Flores 2124, Montevideo, Uruguay

^c Graduate Program in Chemistry, Facultad de Química, Universidad de la República, Gral. Flores 2124, Montevideo, Uruguay

^d Grupo de Análisis de Elementos Traza y Desarrollo de Estrategias Simples para Preparación de Muestras (GATPREM), Analytical Chemistry Area, DEC, Facultad de Química, Universidad de la República, Gral. Flores 2124, Montevideo, Uruguay

ARTICLE INFO

Method name:

Determination of Toxicological relevant species of Arsenic in Urine by Hydride Generation Microwave-Induced Plasma Optical Emission Spectrometry

Keywords:

Arsenic biomonitoring
Urine
Optic emission spectrometry
Workers' health surveillance
Occupational monitoring
Health risk assessment
HG-MP-AES

ABSTRACT

An analytical method for the determination of toxicological relevant species of arsenic in urine was developed and validated using hydride generation microwave-induced emission spectrometry (HG-MP-AES). This strategy can be used as an alternative to HG-HPLC-ICP-MS considered as a reference technique for arsenic speciation. This procedure is notably less expensive than other techniques and sample preparation and requires only a few steps.

- Hydride generation with MP-AES detection has proven to be an effective technique for measuring arsenic metabolites in urine, which is relevant for occupational monitoring and health risk assessment purposes.
- This method offers simplicity and cost-effectiveness, serving as an alternative to classical analytical procedures typically used for arsenic analysis in urine.
- The methodology has been successfully applied for the purpose of workers' health surveillance.

[☆] **Related research article:** P. Pizzorno, L. Falchi, N. Mañay, M. Pistón, V. Bühl. A simple method for the determination of toxicologically relevant arsenic species in urine by hydride generation microwave-induced plasma optical emission spectrometry for health risk assessment, *Spectrochimica Acta Part B At Spectrosc.* 201 (2023) 106,630 <https://doi.org/10.1016/j.sab.2023.106630>

* Corresponding author.

E-mail address: vbuhl@fq.edu.uy (V. Bühl).

Social media: (V. Bühl)

<https://doi.org/10.1016/j.mex.2024.102893>

Received 13 May 2024; Accepted 5 August 2024

Available online 6 August 2024

2215-0161/© 2024 The Author(s). Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

Specifications table

Subject area:	Chemistry
More specific subject area:	Analytical Toxicology, Monitoring, Health, Environmental
Name of your method:	Determination of Toxicological relevant species of Arsenic in Urine by Hydride Generation Microwave-Induced Plasma Optical Emission Spectrometry
Name and reference of original method:	A simple method for the determination of toxicologically relevant arsenic species in urine by hydride generation microwave-induced plasma optical emission spectrometry for health risk assessment P. Pizzorno, L. Falchi, N. Mañay, M. Pistón, V. Bühl, <i>Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy</i> 201 (2023) 10,663 https://doi.org/10.1016/j.sab.2023.106630
Resource availability:	Not applicable

Background

Arsenic, which is highly toxic to humans in its inorganic form, poses a health concern due to occupational exposure to or from natural sources such as contaminated groundwater [1,2]. Therefore, monitoring arsenic exposure from both occupational and natural sources is essential to safeguard public health [3].

Urinary levels of inorganic arsenic and its metabolites, monomethylarsonic acid (MMA) and dimethylarsinic acid (DMA) is widely regarded as the most reliable biomarker of recent exposure, given that the primary route of excretion for inorganic arsenic is through urine [4]. Inorganic arsenic, upon entering the human body through skin contact, inhalation, or ingestion, undergoes methylation reactions that produce MMA and DMA. Subsequently, a mixture containing approximately 10 %–30 % unchanged inorganic arsenic (iAs), 10 %–20 % MMA, and 60 %–70 % DMA is excreted in urine [5,6]. Arsenobetaine, sourced from the diet, particularly from fish and shellfish consumption, has low toxicity and is rapidly absorbed and excreted intact by humans, primarily through urine [5]. However, it is important to note that arsenobetaine does not originate from exposure to inorganic arsenic [4].

Therefore, to assess exposure to iAs, the sum of arsenate, arsenite, DMA, and MMA species in urine is relevant to determine, as recommended, for example, by The American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) [7]. Arsenobetaine, which originates from the diet, is not quantified because it would result in an overestimation of inorganic arsenic exposure. The sum of arsenate, arsenite, DMA, and MMA species in urine can indeed be referred to as “toxicologically relevant arsenic species”. This term encompasses the primary forms of arsenic that are typically measured in urine to assess exposure and the potential health risks associated with arsenic exposure. By quantifying these specific arsenic species, researchers and health professionals can gain valuable insights into the extent of arsenic exposure and its potential health implications.

Workers in various industries, including agricultural, glass manufacturing, construction, mining, recycling of electronic waste, nonferrous smelting, and woodworkers in countries where CCA (chromated copper arsenate) plants are still active, are at risk of arsenic exposure due to its use in paints, wood preservatives, agricultural chemicals, and glass manufacturing. This underscores the importance of organizations like ACGIH developing Biological Exposure Indices (BEIs®) as guidance values for assessing biological monitoring results. The BEI® generally indicates a concentration below which nearly all workers should not experience adverse health effects. ACGIH has developed a BEI® of 35 µg/L for inorganic arsenic and methylated-arsenic metabolites in urine [7]. Thus, having sensitive, precise, and validated techniques to quantify the abovementioned species of arsenic in urine is critical for monitoring occupational arsenic exposure.

Inorganic arsenic and methylated-arsenic metabolites analysis in urine (As-U) can be performed using a variety of analytical methods [8]. Combining chromatographic separation for each species with spectrometric detection methods is one common strategy. High-performance liquid chromatography (HPLC) separation combined with inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) is the most used technique for speciating arsenic (including arsenobetaine, arsenosugars, among others). This is commonly named as *the gold technique* due to of its excellent separation capabilities, low detection limits, high selectivity, and low matrix interference. Although all these factors make it extremely successful, ICP-MS may not be as widely accessible for regular toxicological investigations in developing countries due to its high costs of operation.

Method details

We propose a simple alternative method using atomic emission spectroscopy with microwave-induced plasma (MP-AES). This technique allows the coupling of a chamber for hydride generation (HG-MP-AES). This atomic technique uses nitrogen -instead of argon- from a generator powered by compressed air to sustain the plasma. Additionally, and of notable importance, the instrument's investment and maintenance costs are significantly lower than those of any other atomic technique, and it operates without the need for flammable gases in the laboratory [9].

The proposed method for quantifying As-U involves urine sample preparation through a pre reduction step with l-cysteine. This method is based on the reaction of arsenic species with l-cysteine in an acidic medium, producing thio-derivatives that generate arsines at similar rates. This allows the accurate quantification of the total amount of the four toxicologically relevant species (iAs + MMA + DMA) [10,11]. Arsenobetaine, which can lead to an overestimation of iAs exposure as explained before, is not quantified since it does not form hydrides [12,13].

Table 1

Instrument parameters and operating conditions for arsenic determination using an Agilent 4210 microwave-induced plasma atomic emission spectrometer (MP-AES) system coupled to a Multimode Sample Introduction System (MSIS).

Parameter	Operative condition
As wavelength	188.979 nm
Nitrogen gas source	Agilent 4107 Nitrogen generator
Nitrogen flow rate	0.55 L/min
Microwave frequency	2450 MHz
Applied plasma power	1.0 Kw
Sample introduction system	Agilent MSIS
Sample pump tubing	Black/Black
Reductant tubing	Black/Black
MSIS waste tubing	Black/White
Background correction	Auto
Read Time	10 s
Replicates	3
Pump Speed	30 rpm
Uptake time	0
Stabilization time	10 s
Fast pump during sample uptake	Off
Nebulizer flow	0.95 L/min
Viewing position	30
Calibration fit	Linear

Chemicals and materials

The glassware was soaked overnight in 10 % (v/v) nitric acid (HNO_3) (65% w/w, reagent A.C.S., Merck, Darmstadt, Germany) and rinsed with purified water. The purified water was obtained from a Millipore™ Direct Q3 UV water purification system (Millipore, Bedford, MA, USA) (ASTM type I, 18.2 MΩ.cm resistivity). Reagents of analytical grade or higher quality were used. Arsenic stock standard solution (1000 mg L^{-1} , traceable to SRM from NIST, H_3AsO_4 in HNO_3 0.5 mol L^{-1}) was obtained from Sigma Aldrich (Darmstadt, German) and diluted as necessary to obtain calibrators and quality control samples (QC). A $2000 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ arsenic intermediate standard was prepared daily by proper dilution with purified water. The stock solutions of As(III) (As(III)-oxide Sigma-Aldrich), MMA (> 97.5 %, Chem Service), and DMA (cacodylic acid >99 %, Sigma-Aldrich) were prepared monthly and kept refrigerated at 4 °C. All arsenic (species) solutions were stable under these conditions when tested after one month. The As(III) stock standard solution 1000 mg L^{-1} was prepared by dissolving an appropriate amount of As(III)-oxide in 5 mL of sodium hydroxide 2 M, neutralized with HCl 2 M and diluting with purified water. DMA and MMA stock standard solutions 1000 mg L^{-1} were prepared by dissolving an appropriate amount in purified water. An aliquot of those solutions was diluted with water to give the appropriate concentrations of working standard solutions. L-cysteine (>97 %) and sodium tetrahydroborate (NaBH_4 , 99 %) were obtained from Sigma Aldrich (Darmstadt, Germany). Aqueous solutions of L-cysteine 2 % (w/v) in hydrochloric acid solution (HCl) solution 2 % (w/v) were prepared fresh daily. NaBH_4 2 % (w/v) in 0.5 % (w/v) sodium hydroxide solution was prepared prior to use. The HCl solution (0.1 mol L^{-1}) was prepared by diluting appropriate volumes of concentrated HCl (37 % (w/w), reagent A.C.S., J.T. Baker, Mexico City, Mexico) in purified water.

Instrument

Analytical determinations were performed using an Agilent 4210 microwave-induced plasma atomic emission spectrometer equipped with a standard torch and a Multimode Sample Introduction System (MSIS) for hydride generation (Agilent). Nitrogen was generated with an Agilent 4107 Nitrogen generator (Agilent, Santa Clara, CA, USA), using an air compressor (Dürr Technik, Bietigheim-Bissingen, Germany). The Instrument parameters and operating conditions are shown in Table 1. The operating parameters, such as viewing position and nebulizer flow, were automatically optimized for As with the calibration standard of the maximum concentration by the MP Expert software™ (Agilent) on a daily routine analysis.

Sampling and sample preparation

Samples were collected after at least 2 h of retention in urine cups. For workplace monitoring, they were collected with the same retention time at the workplace at the end of a workweek, following the ACGIH guidelines [7].

The specimens were first frozen (<−10 °C) and stored in a portable cooler for delivery to the laboratory. They were analyzed using the proposed procedure by (HG-MP-AES) within 15 days.

Table 2
Pre-reduction time and obtained slope values of As(V) calibration curve in MFU with relative standard deviation (RSD).

Pre-reduction time (min)	Slope media (Intensity L / μg) $\pm$ RSD% (n = 3)
15	11.5 $\pm$ 3.1
30	18.1 $\pm$ 4.3
60	19.4 $\pm$ 3.8
90	18.7 $\pm$ 5.0

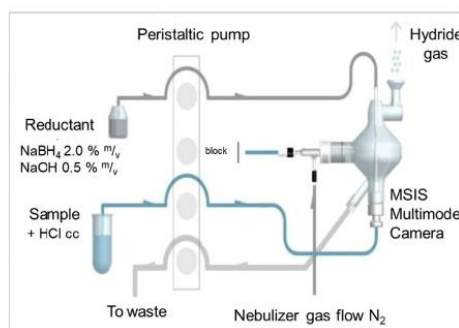


Fig. 1. Flow introduction system and MSIS chamber scheme. Adapted from: MSIS – © Agilent Technologies, Inc [16].

Procedure

Pre-reduction step

A mixture of fresh urine (MFU) prepared by combining at least three urine samples obtained from healthy volunteers non-occupationally exposed to As was used to prepare the calibration solutions and the Quality Control (QC) samples. This mixture was stirred for 2 min to homogenize, centrifuged for 15 min at 28,000 g, and left to stand at room temperature for 30 min.

The As(V) calibration levels were 0, 10, 25, 50, 75, 100, 150, and 200 $\mu\text{g L}^{-1}$. QC samples were prepared in three levels (10, 35, and 100 $\mu\text{g L}^{-1}$). Calibrators and QC samples were prepared by transferring 4.00 mL of the MFU into a 10 mL polypropylene tube and adding an appropriate volume of 2000 $\mu\text{g L}^{-1}$ As (V) intermediate standard, and then, adding 2 % l-Cysteine solution to a final volume of 8.00 mL. Blanks were prepared by mixing 4.00 mL of the MFU and 4.00 mL of aqueous solutions of l-cysteine. Quantification was performed using matrix-matched calibration, due to the observed significant difference in slope between arsenic (V) standard curves in urine and water [14].

Samples from individuals were processed as follows: Initially, they were stirred for 2 min to homogenize, then centrifuged for 15 min at 28,000 g, and subsequently left at room temperature for 30 to stand at room temperature for 30 min. For further analysis, 4.0 mL of the sample were added to 4.0 mL of l-cysteine solution.

L-Cysteine solution was added simultaneously to calibrators, QC samples and study samples, a critical step of this method. After mixing all tubes by inverting them between 8 and 10 times, they were left to stand at room temperature for 30 min.

The pre-reduction time was determined using the concentrations of reagents previously mentioned by measuring three calibration curves of As(V) prepared in MFU at 0, 50, 100, 150 $\mu\text{g L}^{-1}$, after 15, 30, 60 and 90 min at room temperature. The average slopes of the calibration curves obtained at different times were evaluated. According to Table 2, the slope reached its maximum value at 30 min and remained stable for at least 90 min, indicating that the pre-reduction step requires a minimum resting period of 30 min at room temperature, and the signals are stable for at least 90 min. Subsequently, stability studies were conducted to determine whether this time period could be extended.

Analytical determination

Hydride generation was carried out with a solution of 2 % NaBH_4 (w/v) in 0.5 % NaOH (w/v) considering a previous work [15] and the recommendations provided by the MP-AES manufacturer [16].

Calibrators, QC samples, and samples were introduced one by one via the peristaltic pump into the bottom of the MSIS chamber. Simultaneously, the reductant was introduced through the top of the MSIS. The sample and reductant converged in a thin film that forms at the flow convergence point. The volatile hydride species generated by the reactions were separated from the mixture and carried into the plasma by the nebulizer gas flow (Fig. 1). An aqueous solution of 1 % HCl (v/v) between samples was used to eliminate carryover effect.

Table 3

Figures of merit for the method validation of the determination of As metabolites in urine by hydride generation microwave-induced plasma optic emission spectrometry (HG-MP-AES).

Linear range ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Tested concentrations for QC samples ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Intra-assay precision (%)	Inter-assay precision (%)	Recovery (%)
5.4 - 200	1.8	5.4	10 ($n = 15$)	6.2	15	95
			35 ($n = 15$)	3.2	6.9	97
			100 ($n = 15$)	1.8	9.0	97

Table 4

Toxicologically relevant arsenic species recovery.

Species	Spiked Level ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recovery (%) ($n = 10$)	CV (%) ($n = 10$)
As(III)	20	103	8.4
As(V)	20	107	4.7
MMA	20	107	5.1
DMA	20	111	1.2
As(III)+As(V)+MMA+DMA	20+20+20+20	99	1.8

Method validation

Method validation was performed following the recommendations of the Eurachem Guidelines [17]. Some parameters of the Standard Practices for Method Validation in Forensic Toxicology [18], such as stability, were also incorporated since they are useful in laboratory routines, particularly when working with biological samples like urine.

The evaluated figures of merit were linearity, limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ), precision, accuracy, stability, and external proficiency testing control samples.

Linearity was calculated with eight calibration levels at concentrations of 0, 10, 25, 50, 75, 100, 150, and 200 $\mu\text{g L}^{-1}$. The calibration function was evaluated based on an assay with five replicates of each concentration level. Good linearity was observed, with determination coefficients (R^2) greater than 0.999 and individual residuals with random distribution were found.

LOD and LOQ were calculated as 3.3 and 10 times the standard deviation of the measurement blanks ($n = 15$), respectively. The LOD value of 1.8 $\mu\text{g L}^{-1}$ was comparable to the LOD obtained by our group in previous studies using HG-AAS [15] (1.5 $\mu\text{g L}^{-1}$) and higher than the 1.0 $\mu\text{g L}^{-1}$ reported by other groups using HG-AAS [13] and HG-AFS [19]. The lowest LOD reported for arsenic determination in urine samples without coupling with HPLC was obtained by HG-ICP-MS (0.006 $\mu\text{g L}^{-1}$) [12]. However, the obtained values of LOD and LOQ were appropriate for use in As biomonitoring applications, excluding the need of expensive equipment.

Precision and accuracy were determined using three QC samples at concentrations of 10, 35, and 100 $\mu\text{g L}^{-1}$, at low, medium, and high levels, respectively. The QC samples showed acceptable recovery values (Table 3), and the values were within the expected limits (80 %–120 %) [18]. *Intra-assay and inter-assay precision* were evaluated by analyzing the results from five different runs on the same day and were required to be ≤ 20 % of the coefficient of variation [18]. The *intra-assay* precision obtained for all the studied levels presented a variation of 1.8 %–6.2 %. For the *inter-assay* precision, the mean values ranged from 6.9 % to 15.2 %. These results were within the expected limits.

According to the Standard Practices for Method Validation in Forensic Toxicology guidelines, sample *stability* was evaluated under various storage conditions: short-term at room temperature (22 °C); long-term for 15 days at -20 °C; and freeze-thaw stability after undergoing three cycles of freezing and defrosting within 24 h. The results of these evaluations, utilizing three quality control (QC) samples at concentrations of 35 and 100 $\mu\text{g L}^{-1}$, shown relative standard deviation (RSD) percentages ranging between 1.9 % and 6.0 %, and accuracy levels within the range of 91 % to 105 %. These findings align with the acceptability criteria outlined in the guidelines [18]. Therefore, these storage conditions are appropriate for sample storage.

Moreover, the stability of the samples after the pre-reduction step was evaluated by measuring medium (35 $\mu\text{g L}^{-1}$) and high (100 $\mu\text{g L}^{-1}$) quality control (QC) samples at both the initial and 6-hour time points. Achieving a relative standard deviation (RSD%) below 10 % and an accuracy of 103 % for 35 $\mu\text{g L}^{-1}$, and 82 % for 100 $\mu\text{g L}^{-1}$, reflects favorable outcomes. These findings indicate that samples pre-reduced with l-cysteine can be reliably analyzed within a 6-hour timeframe.

The recovery of As(III), As(V), MMA and DMA was studied to verify that the proposed method is suitable for the quantification of the sum of the four toxicological relevant arsenic species, without overestimating or underestimating any of them. Aliquots of MFU were fortified with each species separately (20 $\mu\text{g L}^{-1}$) and with the four species combined (20 $\mu\text{g L}^{-1}$ of each species in the same MFU). The recoveries are shown in Table 4, demonstrating good results, ranging between 99 % and 107 % recovery.

The analytical method has been evaluated and certified through periodic participation in the German External Quality Assessment Scheme (GEQUAS). The results for the 63–64, 66th and 71st GEQUAS rounds [20] were within the target criteria and acceptable range, and they are shown in Table 5.

The remaining samples from the GEQUAS proficiency test (PT) were also used as reference materials for internal quality control.

Table 5
Results for GEQUAS proficiency test (occupational medical field, control urine).

GEQUAS round	Concentration ($\mu\text{g L}^{-1}$)	
	Tolerance range *	Result **
63	12.1 – 22.3	12.5
64	21.3 – 37.5	21.4
66	27.7 – 40.9	34.4
71	9.8 – 18.2	11.9

* Tolerance range provided by GEQUAS-PT.

** Results obtained using the proposed method.

Table 6
Results obtained from urine samples of arsenic exposed workers in 2023. The ACGIH limit is $35 \mu\text{g L}^{-1}$.

As-U concentration range ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Number of samples	Samples%
< 5.0	49	58
$\geq 5 - < 20$	23	27
$\geq 20 - < 35$	11	13
≤ 35	2	2

Determination of as in urine samples

Since 2021, this method has been routinely employed for the assessment of health risks for workers exposed to arsenic. Approximately 100 samples are received annually. In 2023, our laboratory received 85 urine samples from workers at six CCA wood impregnation plants. The urine samples were stored, treated and analyzed using the sample and procedure described above.

The results (Table 6) show that 98 % of the samples had As-U levels below the recommended limit, 58 % of them being below the method quantification limit. Only two of the analyzed samples, showed arsenic levels higher than $35 \mu\text{g L}^{-1}$.

When a worker's test results indicate elevated values, they must be removed from the workplace for at least 15 days, and a new urine sample must be taken for testing. In this particular case, it was found that upon reanalysis, the values for both workers had returned to safe ranges.

Conclusion

The proposed analytical method for quantifying the sum of inorganic arsenic and methylated-arsenic metabolites in urine by HG-MP-AES proved to be useful for evaluating occupational health exposure. Additionally, it can also be utilized for evaluating environmental arsenic exposure. Its simplicity is remarkable in providing an alternative to expensive standard analytical techniques for these applications.

Limitations

Not applicable.

Supplementary material and/or additional information [OPTIONAL]

Data will be available in the PhD thesis of the first author on the public repository of the Universidad de la República: <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/>.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

CRediT authorship contribution statement

Paulina Pizzorno: Investigation, Methodology, Writing – original draft. **Lucía Falchi:** Investigation. **Nelly Mañay:** Conceptualization. **Mariela Pistón:** Methodology, Writing – review & editing. **Valery Bühl:** Supervision, Investigation, Methodology, Writing – original draft.

Data availability

Data will be made available on request.

Ethics statements

The Ethics Committee of the Faculty of Chemistry (Universidad de la República, Uruguay) approved our study, and an informed consent was provided by each participant.

Acknowledgments

The authors would like to thank Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC - INI 2017–177), Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII - POS_NAC_2019_1_158255), and Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas (PEDECIBA - Química).

References

- [1] J. Arsenic, S. Scheer, W. Findenig, K.A. Goessler, B. Francesconi, J.G. Howard, J. Umans, M. Pollak, E.K. Tellez-Plaza, E. Silbergeld, A. Guallar, World Health Organization (WHO), Navas-Acien, Arsenic species and selected metals in human urine: validation of HPLC/ICPMS and ICPMS procedures for a long-term population-based epidemiological study, *Anal. Methods* 4 (2012) 406–413 Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/arsenic>, doi:10.1039/C2AY05638K.22.
- [2] B.A. Baker, V.A. Cassano, C. Murray, Arsenic exposure, assessment, toxicity, diagnosis, and management: guidance for occupational and environmental physicians, *J. Occup. Environ. Med.* 60 (2018) e634, doi:10.1097/JOM.0000000000001485.
- [3] ATSDR, Agency for toxic substances and disease registry, arsenic toxicity: what are the standards and regulation for arsenic exposure? *Environ. Med.* (2007) Available from: <https://www.atsdr.cdc.gov/csem/arsenic/standards.html>.
- [4] Center for Disease Control and Prevention (CDC) Biomonitoring Summary, Arsenic, 2017 Available from: <https://www.cdc.gov/biomonitoring/ArsenicBiomonitoringSummary.html>.
- [5] M.F. Hughes, Biomarkers of exposure: a case study with inorganic arsenic, *Environ. Health Perspect.* 114 (2006) 1790–1796, doi:10.1289/ehp.9058.
- [6] M. Vahter, Mechanisms of arsenic biotransformation, *Toxicology* 181–182 (2002) 211–217, doi:10.1016/S0300-483X(02)00285-8.
- [7] American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) TLVs and BEIs: Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents and Biological Exposure Indices, Signature Publications, Cincinnati, 2020.
- [8] M.S. Reid, et al., Arsenic speciation analysis: a review with an emphasis on chromatographic separations, *Trends Anal. Chem.* 123 (2020) 115770, doi:10.1016/j.trac.2019.115770.
- [9] C.B. Williams, R.S. Amais, B.M. Fontoura, B.T. Jones, J.A. Nóbrega, G.L. Donati, Recent developments in microwave-induced plasma optical emission spectrometry and applications of a commercial Hammer-cavity instrument, *Trends Anal. Chem.* 116 (2019) 151–157, doi:10.1016/j.trac.2019.05.007.
- [10] Hengwu. Chen, I.D. Brindle, X. Chun. Le, Prerelution of arsenic(V) to arsenic(III), enhancement of the signal, and reduction of interferences by L-cysteine in the determination of arsenic by hydride generation, *Anal. Chem.* 64 (1992) 667–672, doi:10.1021/ac00030a018.
- [11] X.-C. Le, W.R. Cullen, K.J. Reimer, Effect of cysteine on the speciation of arsenic by using hydride generation atomic absorption spectrometry, *Anal. Chim. Acta* 285 (1994) 277–285, doi:10.1016/0003-2670(94)80066-9.
- [12] R. Xie, W. Johnson, S. Spayd, G.S. Hall, B. Buckley, Determination of total toxic arsenic species in human urine using hydride generation inductively coupled plasma mass spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 22 (2007) 553–560, doi:10.1039/B612979J.
- [13] T. Guo, J. Baasner, D.L. Tsalev, Fast automated determination of toxicologically relevant arsenic in urine by flow injection-hydride generation atomic absorption spectrometry, *Anal. Chim. Acta* 349 (1997) 313–318, doi:10.1016/S0003-2670(97)00276-6.
- [14] P. Pizzorno, L. Falchi, N. Mañay, M. Pistón, V. Bühl, A simple method for the determination of toxicologically relevant arsenic species in urine by hydride generation microwave-induced plasma optical emission spectrometry for health risk assessment, *Spectrochim. Acta Part B At. Spectrosc.* 201 (2023) 106630, doi:10.1016/j.sab.2023.106630.
- [15] V. Bühl, C. Álvarez, K. Kordas, M. Pistón, N. Mañay, Development of a simple method for the determination of toxicologically relevant species of arsenic in urine using HG-AAS, *J. Environ. Pollut. Hum. Health* 3 (2015) 46–51, doi:10.12691/jeph-3-2-4.
- [16] Agilent, Technical note, Flexible sample introduction with the Multimode Sample Introduction System, 2019. Available from: <https://www.agilent.com/cs/library/technicaloverviews/public/5991-6453EN.pdf>.
- [17] Eurachem Guide: The Fitness For Purpose of Analytical Methods—A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, 2nd. B. Magnusson and U. Örnemark (eds.), 2014. Available from: https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_EN.pdf.
- [18] Scientific Working Group for Forensic Toxicology (SWGTOX), Standard practices for method validation in forensic toxicology, *J. Anal. Toxicol.* 37 (2013) 452–474, doi:10.1093/jat/bkt054.
- [19] J.F. Heilier, P. Buchet, V. Haufroid, D. Lison, Comparison of atomic absorption and fluorescence spectroscopic methods for the routine determination of urinary arsenic, *Int Arch Occup Environ Health* 78 (2005) 51–59, doi:10.1007/s00420-004-0562-x.
- [20] The German External Quality Assessment Scheme (GEQUAS), The german external quality assessment scheme for analyses in biological materials, 2024. Available from: <https://app-gequas.de/web/>.



A simple method for the determination of toxicologically relevant arsenic species in urine by hydride generation microwave-induced plasma optical emission spectrometry for health risk assessment

P. Pizzorno^a, L. Falchi^b, N. Mañay^a, M. Pistón^c, V. Bühl^{b,c,*}

^a Centro Especializado en Química Toxicológica (CEQUIMTOX), Toxicology Area, DEC, Faculty of Chemistry, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

^b Grupo de Bioanálisis y Especiación (BIOESP), Analytical Chemistry Area, DEC Faculty of Chemistry, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

^c Grupo de Análisis de Elementos Traza y Desarrollo de Estrategias Simples para Preparación de Muestras (GATPREM), Analytical Chemistry Area, DEC, Faculty of Chemistry, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

ARTICLE INFO

Keywords:

Arsenic
Urine
Hydride generation microwave-induced plasma
optic emission spectrometry

ABSTRACT

This analytical note presents a simple and economic analytical method for quantifying toxicologically relevant arsenic species in urine—the sum of As (III), As (V), monomethylarsonic acid, and dimethylarsinic acid—by hydride generation microwave-induced plasma atomic emission spectrometry (HG-MIP-AES).

The accuracy of the method was in the range of 95%–97%; the intra-assay precision was within the range of 1.8%–6.2% expressed as the relative standard deviation, and the interassay precision was within 6.9%–15%. The limits of detection and quantification were 1.8 and 5.4 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectively.

The validated method resulted very helpful to assess the health risk of As exposure through drinking water and was successfully applied in urine samples collected from wood impregnation plant workers. The methodology can be postulated as a viable alternative to expensive techniques, such as liquid chromatography (HPLC) in combination with inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS), for biomonitoring studies.

1. Introduction

People are exposed to As through different sources, such as groundwater or contaminated food and industrial processes [1]. The toxicity of As varies according to its different chemical forms [2]. There is wide evidence that the inorganic As (iAs) species, arsenate and arsenite are the main toxic ones and their methylated forms, monomethylarsonic acid (MMA) and dimethylarsinic acid (DMA), have also shown relatively high toxicity [3]. The International Agency for Research on Cancer (IARC) has classified iAs compounds as carcinogenic to humans [4]. Oppositely, organic As compounds such as arsenobetaine and arsenocholine, which are found in seafood, are less harmful to human health [5].

The presence of As in drinking water and food is a major health issue that affects millions of people worldwide [6,7]. Furthermore, several studies showed that the iAs levels in water are higher than those recommended by the World Health Organization in different Uruguayan locations [8]. In addition, certain occupations that use As, such as wood

treating, expose workers to iAs [9]. For example, in Uruguay, 20 wood-impregnation plants mostly still use chromated copper arsenate (CCA) as a preservative [9,10]. Thus, sensitive, accurate, and validated methods are required to assess people exposed to high levels of iAs in drinking water and As exposure for workers' health surveillance.

Inorganic As can enter the human body through dermal absorption, inhalation, or ingestion, and it is mainly metabolized by methylation reactions producing the methylated species above mentioned. Urine is the main route for iAs excretion, which is excreted as a mixture of 10%–30% of unchanged iAs, 10%–20% of MMA, and 60%–70% of DMA [3,11,12]. Arsenobetaine, with low toxicity, is rapidly absorbed and excreted intact by humans [3,13].

Biological monitoring or biomonitoring of As exposure has been employed for many purposes throughout generations since Mateu Orfila's studies on occupational exposure (*The Traité des poisons*, 1815). Biomonitoring data are important in As exposure assessments because they provide evidence of exposure from all sources, routes, and pathways through the determination of exposure biomarkers. Traditionally,

* Corresponding author at: Grupo de Bioanálisis y Especiación (BIOESP), Analytical Chemistry Area, DEC Faculty of Chemistry, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

E-mail address: vbuhl@fq.edu.uy (V. Bühl).

<https://doi.org/10.1016/j.sab.2023.106630>

Received 27 September 2022; Received in revised form 25 November 2022; Accepted 25 January 2023

Available online 30 January 2023

0584-8547/© 2023 Elsevier B.V. All rights reserved.

the total concentration of As in urine is used as a biomarker for exposure assessment [3,13,14]. However, As concentrations in blood, hair, and nails are other options for the biological monitoring of iAs exposure, but urinary As is considered the best biomarker of recent exposure [2].

To assess iAs exposure, many studies focused on the determination of the sum of inorganic related species (arsenate + arsenite + DMA + MMA) as a measure of the “toxicologically relevant As species.” Therefore, As from the consumption of certain food such as seafood that may contain significant concentrations of organic As is avoided [15,16].

Thus, the American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) established a biological exposure index for urinary iAs plus metabolites equal to $35 \mu\text{g L}^{-1}$ as a guideline to be used in occupational health surveillance and official regulations to promote safe working conditions [16]. This is also adopted in other countries.

To meet the ACGIH requirements, it is important to use simple methods to quantify only the sum of the arsenate, arsenite, DMA, and MMA species in urine [16].

Currently, different analytical techniques are applied for As speciation analysis. A combination of chromatographic separation techniques with the spectrometric detection of each specie is a strategy for As speciation. The most common method for performing As speciation is high-performance liquid chromatography (HPLC) separation coupled with inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). It has been confirmed to be a powerful speciation technique because of its superiority in effective separation, sensitive analysis, and simple combination regardless of the expensive instruments and complex operation [17]. To date, HPLC-ICP-MS is the gold standard technology. However, owing to the high operation cost, the use of ICP-MS may not be available for routine toxicological analyses in developing countries.

Other strategies are based on the separation and quantification of the toxicological species using nonchromatographic methods coupled with inexpensive detection. This is the case for hydride generation (HG), which is one of the most effective means for building nonchromatographic techniques in As speciation. The use of HG flame atomic absorption spectrometry (HG-AAS) is also a well-known technique that requires an inflammable gas such as acetylene [18].

Recently, a low-cost technique, microwave-induced plasma optical emission spectrometry (MIP-AES) reemerged with several improvements [19,20]. This technique based on the use of N_2 plasma is less expensive to use and maintain than ICP-MS. This is mainly because if a N_2 generator and conventional air compressor are used, it can run on air [21], no flammable gases are required, and it possesses multielement capabilities. The addition of a multimode sample introduction system (MSIS) accessory assists with the production of hydrides and is useful for the determination of As species, which are separated from the liquid and introduced to the plasma, delivering excellent performance and low limits of detection (LODs), compared with those by conventional nebulization.

This analytical note presents a validated method for the determination of toxicologically relevant As species in urine by HG-MIP-AES. To the best of our knowledge, the use of this technique for such toxicological applications is a novel and extremely useful bioanalytical approach for clinical and forensic labs. Validation was performed according to the Eurachem guidelines and the Standard Practices for Method Validation in Forensic Toxicology [22] [23]. This new validated method was applied to determine As species in urine samples of exposed workers collected from 2019 to 2021.

2. Materials and methods

2.1. Reagents

The glassware was soaked overnight in 10% (v/v) nitric acid (HNO_3) (65% w/w, reagent A.C.S., Merck, Darmstadt, Germany) and rinsed with purified water. The purified water was obtained from a Millipore™ Direct Q3 UV water purification system (Millipore, Bedford, MA, USA)

(ASTM type I, $18.2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ resistivity). Reagents of analytical grade or higher quality were used. Arsenic stock standard solution (1000 mg L^{-1} , traceable to SRM from NIST, H_3AsO_4 in HNO_3 0.5 mol L^{-1}) was obtained from Sigma Aldrich (Darmstadt, Germany) and diluted as necessary to obtain calibrators and quality control samples (QC).

L-cysteine (>97%) and sodium tetrahydroborate (NaBH_4 , 99%) were obtained from Sigma Aldrich (Darmstadt, Germany). Aqueous solutions of L-cysteine 2% (w/v) in hydrochloric acid solution (HCl) solution 2% (w/v) were prepared fresh daily. NaBH_4 2% (w/v) in 0.5% (w/v) sodium hydroxide solution was prepared prior to use. The HCl solution (0.1 mol L^{-1}) was prepared by diluting appropriate volumes of concentrated HCl (37% (w/w), reagent A.C.S., J.T. Baker, Mexico City, Mexico) in purified water.

2.2. Sample preparation and analysis

The benefits of performing an L-cysteine prereduction prior to the analysis using HG techniques have been reported [24,25]. Previous studies reported that when L-cysteine was added to urine samples, As (III), As (V), MMA, and DMA yielded the same response under the same optimal acid concentration when the determinations were performed by HG [25–27]. After this prereduction step, the aforementioned As species were present in the same oxidation state (As (III)), thereby yielding the same response by HG with NaBH_4 in acid medium (HCl). The best sensitivity is expected when the formation of hydrides are from As (III) than that from As (V).

Notably, arsenobetaine did not form a hydride under this condition, as previously demonstrated [26,28]. This different chemical reactivity provides a convenient means to differentiate between more toxic hydride-forming arsenicals, which might be present in environmental/biological samples and other essentially nontoxic organoarsenic compounds.

Thereafter, the proposed method was based on a prereduction step with L-cysteine in an acid medium to generate tioderived compounds from As (III) + As (V) and the methylated species (MMA + DMA) that form arsines at similar rate of reaction. Thus, the sum of the four toxicologically relevant species was determined (As (III) + As (V) + MMA + DMA); this is called the “hydride-reactive” fraction [26,29,30]. To determine the sum of these four species, the HG technique based on their reduction to arsine (AsH_3) with NaBH_4 in an acid medium (HCl) was employed [31,32].

The concentrations of L-cysteine, NaBH_4 , and HCl are critical parameters that were optimized in previous studies [18].

In this method for the prereduction step, urine samples were diluted (1:1) with aqueous solutions of L-cysteine [4 mL of the sample were added to 4 mL of L-cysteine solution].

A mixture of fresh urine (MFU) prepared by combining at least three urine samples obtained from healthy volunteers nonoccupationally exposed to As was used to prepare the calibration solutions and the QC samples (matrix-matched calibration). This mixture was stirred for 2 min to homogenize, and centrifuged for 15 min at 28,000g. Calibrators and QC solutions were prepared by transferring 4.00 mL of the MFU into a polypropylene tube and adding an appropriate volume of As (V) intermediate standard, followed by the addition of the L-cysteine solution to a final volume of 8.00 mL, and left to stand at room temperature for 30 min. The toxicologically relevant As species concentrations in urine were stable at room temperature for 6 h. The calibration levels were 0, 10, 25, 50, 75, 100, 150, and $200 \mu\text{g L}^{-1}$, and the QC samples were prepared in three levels (10, 35, and $100 \mu\text{g L}^{-1}$).

The reducing agent for HG was NaBH_4 2% (w/v) in NaOH 0.5% (w/v).

2.3. Instrumentation

Analytical determinations were performed at 193.695 nm using an Agilent 4210 microwave-induced plasma atomic emission spectrometer

equipped with a standard torch and MSIS for HG (Agilent). The MIP-AES operating conditions were a N_2 flow rate of 0.55 L min^{-1} , and read time 10 s. The operating parameters such as viewing position and nebulizer pressure were automatically optimized for As with the calibration standard of the maximum concentration by the MP Expert software (Agilent). The uptake rates were 0.5 mL min^{-1} for the sample and for the reductant.

All measurements were made in triplicate and blanks were also run (MFU 1:1 in aqueous solutions of L-cysteine). An aqueous solution of HCl 1% (v/v) was used to avoid carryover.

2.4. Method validation

Method validation was conducted according to the Eurachem Guidelines [23] and the Standard Practices for Method Validation in Forensic Toxicology [22] and included the evaluation of matrix effects, linearity, limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ), precision, bias, stability, and external proficiency testing control samples.

The method was applied to analyze 30 urine samples, and the results were compared with those obtained by HG-AAS, a previously developed method [18].

2.5. Biological samples

From 2019 to 2021, the urine samples from workers of six CCA impregnation plants were analyzed as a routine assessment for health risk prevention.

Those were 129 urine samples collected after at least 2 h of retention at the workplace at the end of a workweek in urine cups, according to ACGIH [16]. The specimens were first frozen ($<-10^\circ\text{C}$) and stored in a portable cooler for delivery to the laboratory. They were analyzed using the proposed method (HG-MIP-AES) within 15 days.

3. Results and discussion

In previous work, calibration curve was established in the range $5\text{--}50\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ using As (V), since there were no significant differences between the slopes for the other species (As (III), DMA and MMA) [18]. Thus, herein the quantification of relevant As species was conducted by external calibration with As (V) standards prepared in water and in the MFU in the same way as samples.

Experimental conditions were adapted from a previous work to fit the purpose of this application using HG-MIP-AES. The gas-liquid separation chamber has a different design in this technique (MSIS chamber) compared with the vapor generation accessory Agilent VGA 77, so a direct transfer of the conditions is not possible. Thus, the concentrations and flow rates of the reagents were adjusted, to obtain comparable results (sensitivity, signal to noise ratio) with the previous work [18].

The matrix effect was studied by comparison between As (V) standards curves in MFU and in water.

Using Student's *t*-test, it was verified that the slope of the calibration curve in water differ significantly from the slope obtained in MFU theoretical t value $2.776 < 45.1$ *t* value (0.05,3) [33].

Thus, the proposed method was developed using a matrix-matched calibration.

Linearity was calculated using eight calibration levels at concentrations of 0, 10, 25, 50, 75, 100, 150, and $200\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$. The calibration function was evaluated based on an assay with five replicates of each concentration level. In addition, it was evaluated using a linear regression model, analyzing the coefficient of determination (R^2), and analysis of variance (ANOVA) lack-of-fit (LOF) test [23].

The calibration function was linear over a concentration range of $5\text{--}200\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ ($R^2 = 0.9997$). ANOVA-LOF test demonstrated the adequacy of the regression models for linearity with an *F* value of 0.560 (*F*_{critic} = 3.922).

The wide working range allowed a precise analysis of samples with

high urine As levels because the samples did not require dilution, and less time was required to perform the analysis although high urine levels were not frequently found in the study population. This is a remarkable advantage compared to HG-AAS (linear range up to $50\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$) [18].

LOD and LOQ were calculated as 3.3 and 10 times the standard deviation of the measurement blanks ($n = 15$), respectively [23]. Blanks were prepared by diluting MFU 1:1 in aqueous solutions of L-cysteine. The results are shown in Table 1. The LOD and LOQ values were similar to those reported by Lindberg et al. by HPLC-HG-AFS expressed as As (V) [30] and higher than those obtained by HG-ICP-MS [15] and HPLC-ICP-MS [34,35]. Therefore, we confirmed that there was no need to use expensive technology to achieve the figures of merit of LOD and LOQ that fit this purpose.

Precision and bias were determined using three QC samples at concentrations of 10, 35, and $100\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$, at low, medium, and high levels, respectively. The QC samples showed acceptable recovery values (Table 1), and the values were within the expected limits (80%–120%) [22].

Intra-assay and inter-assay precision were evaluated by analyzing the results from five different runs on the same day and were required to be $\leq 20\%$ of the coefficient of variation [22]. The intra-assay precision obtained for all the levels presented a variation of 1.8%–6.2%. For the inter-assay precision, the mean values ranged from 6.9% to 15.2%. The values were within the expected limits.

Stability was evaluated by analyzing medium ($35\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$) and high ($100\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$) QC samples under different conditions as follows [22]:

- *Short-term stability* was assessed with medium and high QC samples preserved at room temperature (22°C) for 6 h.
- *Long-term stability* was evaluated with samples stored for 15 days at a temperature of -20°C .
- *Freeze-thaw stability* was evaluated by analyzing medium and high QCs after three cycles of freezing and defrosting in a 24 h period.
- *Postprocessing stability* was determined by measuring medium and high QC samples at first and 6 h after sample preparation. The method's bias limit was $\pm 15\%$ with time zero.

The sample stability under different storage conditions is shown in Table 2; the coefficient of variation was between 1.9% and 6.0%. The results of the stability tests also followed the Standard Practices for Method Validation in Forensic Toxicology guidelines [22]. The toxicologically relevant As species concentrations in urine were stable at room temperature for 6 h and evaluated under different storage conditions. We demonstrated that the samples prerduced with L-cysteine could be analyzed within 6 h.

The analytical method has been evaluated and certified through periodic participation in the German External Quality Assessment Scheme (GEQUAS). The results for the 63–64 y 66th GEQUAS rounds [36] were within the target criteria and acceptable range, and they are shown in Table 3. The remaining samples of the GEQUAS proficiency test (PT) were also employed for internal quality control considering it as a reference material.

The proposed method was applied to analyze 30 samples, as previously described, and the results were compared with those obtained by HG-AAS [10]. When matching, we expect both methods to be equivalent when the equation for a linear tendency is $y = x$.

Fig. 1 shows the results obtained comparing HG-MIP-AES and HG-AAS and their correlation. An adequate correlation ($R^2 = 0.9653$) with a slope (0.9951) and intercept (0.0616) was obtained. Thus, both techniques were equivalent.

3.1. Application to urine samples

The validated method was used to analyze urine from exposed workers as previously described. The results are shown in Table 4.

In countries where CCA plants are still active, the woodworkers are

Table 1

Figures of merit for the method validation of the determination of toxicologically relevant As species in urine by hydride generation microwave-induced plasma optical emission spectrometry (HG-MIP-AES).

LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Tested concentrations for QC samples ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Intra-assay precision (%)	Inter-assay precision (%)	Recovery (%)	Bias (%)
1.8	5.4	10 (n = 15)	6.2	15	95	-5.4
		35 (n = 15)	3.2	6.9	97	-3.0
		100 (n = 15)	1.8	9.0	97	-3.0

Table 2

Stability analysis results of toxicologically relevant As species in the urine samples by HG-MIP-AES.

Tested concentrations ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentration ($\mu\text{g L}^{-1}$)/RSD(%) / accuracy (%)			
	Short-term stability (22 °C/6 h)	Long-term stability (-20 °C/15 d)	Postprocessing (22 °C/6 h after sample preparation)	Three cycles of freezing and defrosting
35 (n = 3)	31.9/2.7/91.3	36.5/2.0/104	36.9/8.8/103	37.0/1.9/105
100 (n = 3)	97.4/0.1/97.4	103/1/103	82.2/5.3/82.2	101/6/101

Table 3

Results for GEQUAS proficiency test (occupational medical field, control urine 2A/2B).

GEQUAS round	Concentration ($\mu\text{g L}^{-1}$)			
	Tolerance range 2A*	Result 2A**	Tolerance range 2B*	Result 2B**
63	12.1–22.3	12.5	129.9–184.5	140
64	21.3–37.5	21.4	59.4–93.0	92
66	27.7–40.9	34.4	119.7–158.7	144

*Tolerance range provided by GEQUAS-PT. **Results obtained using the proposed method.

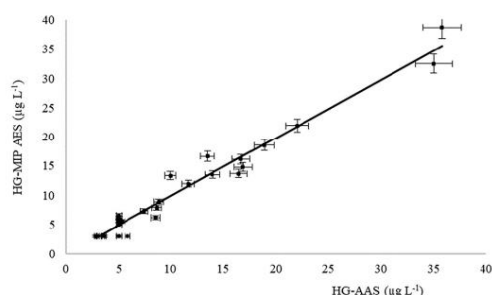


Fig. 1. Comparison of concentrations ($\mu\text{g L}^{-1}$) obtained by HG-MIP-AES vs. HG-AAS in urine samples (n = 5 for each sample; total of samples:30).

Table 4

Concentration distribution in the urine samples of a population of exposed workers from 2019 to 2021.

	Concentration range of toxicologically relevant As species ($\mu\text{g L}^{-1}$)		
	<LOQ	$\geq\text{LOQ}$ and < 35	≥ 35
Number of samples	35	87	7.0
%	23	67	5.4

exposed thus, biomonitoring toxicologically relevant As species in urine should be mandatory. In Uruguay, as the case dealt in this study, the authorities adopted the recommendations of the ACGIH [37] for the exposed workers: urine samples must be collected twice a year at the end of the workweek to analyze toxicologically relevant As species in urine (As-U) [16]. When the As levels were higher than the ACGIH limits, the worker was removed from his/her work activities, and the analysis was repeated after 15 days [38]. In the meantime, it is necessary to identify possible causes and perform the appropriate corrective actions.

In this case, we found that only 7 out of 129 urine samples (5.4%) had As levels higher than the ACGIH limits ($35 \mu\text{g L}^{-1}$). International Protocols [16] indicate that these workers with high As urine levels should be removed from the workplace and reinstated after 15 days with safe As values.

Furthermore, it is already being used to assess health risks for As exposure through drinking water in an Uruguayan rural population.

Independent of this application, the proposed analytical method showed to be easily to apply for bioanalytical analysis involving the determination of toxicologically relevant species of As. For these purposes there is no need to use expensive techniques and special laboratory facilities not always available in regions of the world where arsenic problems are of great concern and a rapid analytical response is required.

4. Conclusions

A simple and economical analytical method for the determination of the toxicologically relevant species of As using HG-MIP-AES in urine was fully validated.

The results showed that the figures of merit of this method were adequate for biomonitoring purposes to assess health risk of As exposure and surveillance purposes.

An application for biomonitoring CCA-exposed woodworkers was described exemplifying a case of the surveillance of a real problem. These experiences have verified high benefits in terms of costs vs. performance of HG-MIP-AES over the others.

The methodology can be postulated as an alternative to expensive techniques, such as HPLC-ICP-MS, and as more in agreement with the principles of the green analytical chemistry for epidemiological studies as an extended application. We postulate this method as a tool for general population risk assessments of environmental exposure to As.

CRedit authorship contribution statement

P. Pizzorno: Investigation, Methodology, Writing – original draft. **L. Falchi:** Investigation. **N. Mañay:** Conceptualization. **M. Pistón:** Methodology, Writing – review & editing. **V. Bühl:** Supervision, Investigation, Methodology, Writing – original draft.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

Data availability

Data will be made available on request.

Acknowledgments

The authors would like to thank Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC - INI 2017-177), Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII - POS_NAC_2019_1_158255), and Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas (PEDECIBA - Química).

References

- [1] World Health Organization (WHO), Arsenic, accessed August 15, 2022, <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/arsenic>, 2018.
- [2] Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), Toxicological Profile For Arsenic, accessed August 18, 2022, <https://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp2.pdf>, 2007.
- [3] M.F. Hughes, Biomarkers of exposure: A case study with inorganic arsenic, *Environ. Health Perspect.* 114 (2006) 1790–1796, <https://doi.org/10.1289/ehp.9058>.
- [4] International Agency for Research of Cancer (IARC), Agents Classified by the IARC Monographs, accessed August 18, 2022, https://monographs.iarc.who.int/wp-content/uploads/2019/07/Classifications_by_cancer_site.pdf, 2022.
- [5] F.N. Kotsouli, G.A. Burdock, W.G. Flamm, Food toxicology, in: C.R. Klaassen (Ed.), *Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons*, 5th Edition, Chapter 30, McGraw-Hill Companies, Kansas, U.S., 1996, pp. 909–950.
- [6] World Health Organization (WHO), Guidelines for drinking water quality, 2017 accessed June 15, 2022, <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/1080656/retrieve>.
- [7] N. Morales-Simfons, J. Bundschuh, I. Herath, C. Inguaggiato, A.T. Caselli, J. Tapia, F. Erlington Apaza Choquehuaytag, M.A. Armentia, M. Ormachea, E. Joseph, D. L. López, Arsenic in Latin America: A critical overview on the geochemistry of arsenic originating from geothermal features and volcanic emissions for solving its environmental consequences, *Sci. Total Environ.* 716 (2020), 135564, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135564>.
- [8] N. Mañay, M. Pistón, M. Cáceres, P. Pizzorno, V. Bühl, An overview of environmental arsenic issues and exposure risks in Uruguay, *Sci. Total Environ.* 686 (2019) 590–598, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.443>.
- [9] B.A. Baker, V.A. Cassano, C. Murray, ACOEM Task Force on Arsenic Exposure, Arsenic exposure, assessment, toxicity, diagnosis, and management. Guidance for occupational and environmental physicians, *J. Occup. Environ. Med.* 60 (2018) e634–e639, <https://doi.org/10.1097/JOM.0000000000001485>.
- [10] V. Bühl, M.C. Álvarez, M.H. Torre, M. Pistón, N. Mañay, Biomonitoring of arsenic in woodworkers exposed to CCA and evaluation of other non-occupational sources in Uruguay, *Int. J. Occup. Environ. Health* 23 (2017) 71–80, <https://doi.org/10.1080/10773525.2018.1425654>.
- [11] M. Vahter, G. Concha, Role of metabolism in arsenic toxicity, *Pharmacol. Toxicol.* 89 (2001) 1–5, <https://doi.org/10.1034/j.1600-0773.2001.d01-128.x>.
- [12] M. Vahter, Mechanisms of arsenic biotransformation, *Toxicology* 181–182 (2002) 211–217, [https://doi.org/10.1016/s0300-483x\(02\)00285-8](https://doi.org/10.1016/s0300-483x(02)00285-8).
- [13] Center for Disease Control and Prevention (CDC), Biomonitoring Summary. Arsenic, accessed June 15, 2022, https://www.cdc.gov/biomonitoring/Arsenic_BiomonitoringSummary.html, 2017.
- [14] E.I. Brima, R.O. Jenkins, P.I. Haris, Understanding arsenic metabolism through spectroscopic determination of arsenic in human urine, *Spectroscopy* 20 (2006) 125–151, <https://doi.org/10.1155/2006/759046>.
- [15] R. Xie, W. Johnson, S. Spayd, G.S. Hall, B. Buckley, Determination of total toxic arsenic species in human urine using hydride generation inductively coupled plasma mass spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 22 (2007) 553–560, <https://doi.org/10.1039/b612979j>.
- [16] American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH), TLVs and BEIs: Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents and Biological Exposure Indices, Signature Publications, Cincinnati, 2020.
- [17] M.S. Reid, K.S. Hoy, J.R.M. Schofield, J.S. Uppal, Y. Lin, X. Lu, H. Peng, X.C. Le, Arsenic speciation analysis: A review with an emphasis on chromatographic separations, *Trends Anal. Chem.* 123 (2020) 115770, <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115770>.
- [18] V. Bühl, C. Álvarez, K. Kordas, M. Pistón, N. Mañay, Development of a simple method for the determination of toxicologically relevant species of arsenic in urine using HG-AAS, *J. Environ. Pollut. Hum. Health* 3 (2015) 46–51, <https://doi.org/10.12691/jephh-3-2-4>.
- [19] C.B. Williams, R.S. Amsis, B.M. Fontoura, B.T. Jones, J.A. Nóbrega, G.L. Donati, Recent developments in microwave-induced plasma optical emission spectrometry and applications of a commercial hammer-cavity instrument, *Trends Anal. Chem.* 116 (2019) 151–157, <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.05.007>.
- [20] C.B. Williams, T.G. Wittmann, T. McSweeney, P. Elliott, B.T. Jones, G.L. Donati, Dry ashing and microwave-induced plasma optical emission spectrometry as a fast and cost-effective strategy for trace element analysis, *Microchem. J.* 132 (2017) 15–19, <https://doi.org/10.1016/j.microc.2016.12.017>.
- [21] Agilent Technologies, A. Amorin, Use of the Agilent Multimode Sample Introduction System (MSIS) for Simultaneous Hydride Determination and Conventional Nebulization Using the PerkinElmer Optima 7/8x00 Series ICP-OES Systems, Application note, accessed June 15, 2022, <https://www.agilent.com/cs/library/applications/5991-6509EN.pdf>, 2021.
- [22] Scientific Working Group for Forensic Toxicology (SWGTOX), Standard practices for method validation in forensic toxicology, *J. Anal. Toxicol.* 37 (2013) 452–474, <https://doi.org/10.1093/jat/bkt054>.
- [23] B. Magnusson, U. Örnemark, Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods—A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, 2014.
- [24] H. Chen, I.D. Brindle, X.C. Le, Prereduction of arsenic (V) to arsenic (III), enhancement of the signal, and reduction of interferences by L-cysteine in the determination of arsenic by hydride generation, *Anal. Chem.* 64 (1992) 667–672, <https://doi.org/10.1021/ac00030a018>.
- [25] X.C. Le, W.R. Cullen, K.J. Reimer, Effect of cysteine on the speciation of arsenic by using hydride generation atomic absorption spectrometry, *Anal. Chim. Acta* 285 (1994) 277–285, [https://doi.org/10.1016/0003-2670\(94\)80066-9](https://doi.org/10.1016/0003-2670(94)80066-9).
- [26] T. Guo, J. Baasner, D.L. Tsalev, Fast automated determination of toxicologically relevant arsenic in urine by flow injection hydride generation atomic absorption spectrometry, *Anal. Chim. Acta* 349 (1997) 313–318, [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(97\)00276-6](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(97)00276-6).
- [27] P. Carrero, A. Malavé, J.L. Burguera, M. Burguera, C. Rondón, Determination of various arsenic species by flow injection hydride generation atomic absorption spectrometry: investigation of the effects of the acid concentration of different reaction media on the generation of arsines, *Anal. Chim. Acta* 438 (2001) 195–204, [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)00796-6](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)00796-6).
- [28] R. Xie, W. Johnson, S. Spayd, G.S. Hall, B. Buckley, Determination of total toxic arsenic species in human urine using hydride generation inductively coupled plasma mass spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 22 (2007) 553–560, <https://doi.org/10.1039/b612979j>.
- [29] Z. Rivera-Núñez, J.R. Meliker, A.M. Linder, J.O. Nriagu, Reliability of spot urine samples in assessing arsenic exposure, *Int. J. Hyg. Environ. Health* 213 (2010) 259–264, <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2010.03.003>.
- [30] A.L. Lindberg, W. Goessler, M. Grandjean, B. Nermell, B. M. Vahter, Evaluation of the three most commonly used analytical methods for determination of inorganic arsenic and its metabolites in urine, *Toxicol. Lett.* 168 (2007) 310–318, <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2006.10.028>.
- [31] A.R. Kumar, P. Riyazuddin, Mechanism of volatile hydride formation and their atomization in hydride generation atomic absorption spectrometry, *Anal. Sci.* 21 (2005) 1401–1410, <https://doi.org/10.2116/analsci.21.1401>.
- [32] J. Dedina, D. Tsalev, Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry, John Wiley & Sons Ltd., Great Britain, 1995.
- [33] J.N. Miller, J.C. Miller, *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, 6th Ed, Ashford Colour Press Ltd., UK, Gosport, 2010.
- [34] J. Scheer, S. Findenig, W. Goessler, K.A. Francesconi, B. Howard, J.G. Umans, J. Pollak, M. Tellez-Plaza, E.K. Silbergeld, E. Guallar, A. Navas-Acien, Arsenic species and selected metals in human urine: validation of HPLC/ICPMS and ICPMS procedures for a long-term population-based epidemiological study, *Anal. Methods* 4 (2012) 406–413, <https://doi.org/10.1039/C2AY05638K>.
- [35] E. Leese, J. Morton, E. Tan, P.H.E. Gardiner, V.A. Carolan, μ L-ICP-MS determinations of unexposed UK urinary arsenic speciation reference values, *J. Anal. Toxicol.* 38 (2014) 24–30, <https://doi.org/10.1093/jat/bkt090>.
- [36] The German External Quality Assessment Scheme For Analyses in Biological Materials (GEQUAS), accessed June 15, 2022, <https://app.g-equa.de/web/>, 2022.
- [37] Ministerio de Salud Pública de Uruguay, Vigilancia sanitaria de trabajadores expuestos a factores de riesgo laborales, Ordenanza N°145/009, 2009 (accessed June 15, 2022), <https://www.gub.uy/ministerio-salud-publica/institucional/normativa/ordenanza-n-145009-ordenanza-14509>.
- [38] Guía de Buenas Prácticas en Impregnación de Madera Tomo 2: Gestión Ambiental y Producción más Limpia, Good Practices Guide on Wood Impregnation Volume 2: Environmental Management and Cleaner Production. Cooperación Técnica MERCOSUR- Germany, accessed June 15, 2022, https://www.gub.uy/ministerio-ambiente/sites/ministerio-ambiente/files/2020-07/AdjuntoIZ-Zcopia215_0.pdf, 2017.

Arsénico en agua subterránea de Uruguay y riesgo a la salud asociado (Proyecto AsURU): resultados preliminares

P. Collazo
K. Pamoukaghlián
V. Bühl

P. Pizzorno
N. Mañay

Resumen: Con el objetivo de dar una solución al problema de los elevados valores de arsénico (As) en agua subterránea de Uruguay, se está desarrollando la fase inicial del proyecto multidisciplinario e interinstitucional "Arsénico en agua subterránea de Uruguay y riesgo a la salud asociado" (AsURU), coordinado por la Facultad de Ciencias y Facultad de Química, con la participación de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de la República (UDELAR) y de varios organismos gubernamentales¹. El Acuífero Raigón y los Acuíferos Cretácicos en el litoral del Río Uruguay son los más afectados, pero también existen anomalías en otros

acuíferos porosos e incluso en acuíferos fisurados. En la fase inicial de este proyecto y de acuerdo con una revisión histórica de los valores de arsénico elevado (principalmente basada en datos proporcionados por Administración estatal de obras hidráulicas (OSE), y considerando el consumo de agua subterránea por parte de la población, se han seleccionado las siguientes áreas piloto: (a) Conchillas, presentando concentraciones de $\text{As} > 30 \mu\text{g L}^{-1}$; (b) Young, de acuerdo con el registro histórico de valores de As elevados ($\text{As} > 10 \mu\text{g L}^{-1}$) y al consumo prolongado de 100% de la población; (c) San Javier, con valores de $\text{As} > 10 \mu\text{g L}^{-1}$; y (d) Libertad, donde se registran valores de As entre 10 y $30 \mu\text{g L}^{-1}$. El tema debe ser abordado desde el punto de vista geológico e hidrogeológico, ya que para poder dar una solución se debe identificar el origen del contaminante y tratar de prevenir la extracción de agua en condiciones de calidad insuficientes, teniendo en cuenta la incidencia en la salud humana. La remediación debería ser una herramienta para utilizar mientras no se encuentran las soluciones más adecuadas, las cuales se obtienen al realizar perforaciones libres de arsénico con base en un estudio de los niveles permeables afectados. En tal contexto, se debería, asimismo, recurrir a remediar aquellas perforaciones para las cuales no es posible eliminar el As mediante el sellado de niveles permeables.

Palabras clave: arsénico (As), calidad del agua subterránea, áreas piloto, contaminación natural.

¹ Para mayor información consultar <http://icgeologicas.fcien.edu.uy/2018/10/10/proyecto-asuru-arsenico-uruguay/>

Recibido: Marzo 24, 2020 / Aceptado: Agosto 15, 2020
Publicado en línea: Octubre, 2020
© 2020

P. Collazo • K. Pamoukaghlián 
Instituto de Ciencias Geológicas, Facultad de Ciencias,
Universidad de la República de Uruguay (UDELAR),
Iguá # 4265, 11.400, Montevideo, Uruguay.
E-mail de correspondencia: mpaula@fcien.edu.uy

V. Bühl • P. Pizzorno • N. Mañay
Departamento Estrella Campos, Facultad de Química,
UDELAR, General Flores # 2124, Montevideo,
Uruguay.

Abstract: The multidisciplinary and inter-institutional project "Arsenic in groundwater of Uruguay and associated health risk" (AsURU) is taking place in the initial phase, with the aim to solve the problem of high values in groundwater in Uruguay, coordinated by Science and Chemistry Faculties and counting with the participation of the Ingeniery Faculty of the Uruguayan Republic University (UDELAR) and several government agencies. The main affected aquifers are the Raigón Aquifer on the southern coast and the Cretaceous Aquifers on the western coast of Uruguay. However, there are anomalies in other sedimentary aquifers and even in fractured aquifers. In the initial phase of this project and after an historical review (mainly based on data provided by State Waterwork Administration (OSE) of high arsenic values and quantitative factors regarding groundwater consumption, the following pilot areas have been selected: (a) Conchillas, presenting concentrations of $\text{As} > 30 \mu\text{g L}^{-1}$; (b) Young, according to the historical record of high As values ($\text{As} > 10 \mu\text{g L}^{-1}$) and the prolonged consumption of 100% of the population; (c) San Javier with As values $> 10 \mu\text{g L}^{-1}$; and (d) Libertad, with As recorded values between 10 and $30 \mu\text{g L}^{-1}$. The problem must be approached from the geological and hydrogeological point of view because the origin of the contaminant must be identified and try to prevent water extraction of low quality, regarding human health implications. Remediation should be used in the meantime while most suitable solutions cannot be founded, which would be obtained by designing free-arsenic wells, based on the identification of affected permeable levels. However, remediation should be applied in places for which it is not possible to eliminate arsenic just sealing permeable levels.

Keywords: arsenic (As), groundwater quality, pilot area, natural contamination.

INTRODUCCIÓN

La presencia de anomalías de arsénico (As) en el agua subterránea es un tema de salud ambiental muy importante para el país, ya que gran parte de la población rural se abastece de agua subterránea. El valor máximo permitido, según las normativas de potabilidad vigentes en Uruguay es de $20 \mu\text{g L}^{-1}$ (0.02 mg/L) (UNIT, 2010); se tiene previsto en un futuro próximo bajar este a $10 \mu\text{g L}^{-1}$ (0.01 mg/L), valor establecido por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para el agua potable, por motivos de salud (WHO; 2010). Si bien se cuenta con las referidas normas de potabilidad de agua, no existen estudios sistemáticos de calidad de agua subterránea sobre la incidencia en la salud humana. Sin embargo, recientemente se hizo una primera aproximación para intentar correlacionar el riesgo de cáncer de tipo melanoma en hombres y mujeres con valores elevados de As, con resultados interesantes (Mañay et al., 2019).

El Proyecto AsURU, coordinado por la Facultad de Ciencias (Paula Collazo y Karina Pamoukaghlián) y por la Facultad de Química (Nelly Mañay), tiene como objetivo principal dar una solución a esta problemática, haciendo un enfoque no solamente desde el punto de vista de la hidrogeología y la caracterización de acuíferos, sino también desde el riesgo a la salud, además de buscar soluciones por medio de métodos de remediación de acuíferos, mitigación del As en perforaciones ya existentes y la posible prevención en la construcción de nuevas perforaciones.

El presente reporte pretende mostrar los avances y dificultades encontrados durante este proceso. Desde el punto de vista de la hidrogeología, se ha avanzado en la recopilación de datos acerca de las bases teóricas de la hidrodinámica del As en el agua subterránea y las posibles causas naturales de su origen. Los resultados de la investigación de Machado y colaboradores (2019a; 2019b) avalan un origen natural del As debido a la disolución de vidrio volcánico, lo cual se explicará más adelante.

Desde el punto de vista de riesgo a la salud, se han publicado resultados de las investigaciones que se están desarrollando por el grupo de la Facultad de Química. Con el objetivo de correlacionar las anomalías de As con un tipo de cáncer, Mañay y compañeros (2019) relevaron una región que cubre aproximadamente un tercio de todo el país e incluye dos acuíferos principales: el acuífero Mercedes y el Raigón. Los acuíferos investigados en el estudio corresponden a 61.5% del agua subterránea total extraída en el país para consumo humano (DINAMIGE, 2009), de acuerdo con datos provistos por la Administración de Obras Sanitarias del Estado (OSE) y por el Movimiento Pro-Eradicación de la Vivienda Rural Insalubre (MEVIR). Por una parte, dentro del área de estudio, aproximadamente 113,500 personas reciben agua subterránea en localidades en las que se reportaron niveles de As por encima de los recomendados por la OMS (OSE, 2016). Por otra parte, se contó con los datos de incidencia y mortalidad por cáncer registrados en la última publicación del Atlas de Cáncer de Uruguay (Comisión Honoraria de Lucha contra el Cáncer, CHLCC, 2014), en el cual aparecen reportada la incidencia de diferentes tipos de cáncer en hombres y mujeres de acuerdo con la división territorial del Uruguay.

Asimismo, y dada la preocupación de la incidencia de este problema en niños, se han realizado estudios epidemiológicos acerca de la exposición a bajos niveles de As en el agua de consumo en relación con la alimentación (considerando p.ej. el consumo de arroz), en niños de edad escolar para Uruguay (Kordas et al., 2016), así como la incidencia que esto tiene en el aprendizaje (Desai et al., 2020).

Por su parte, Falchi y colaboradores (2018) estudiaron la concentración de As en agua proveniente de zonas arroceras de la Laguna Merín. Se tomaron muestras de la laguna y principales canales que abastecen la producción de arroz, y muestras de agua subterránea de los pozos que abastecen a los habitantes del pueblo de la empresa

arroceras, se observaron concentraciones de tAs (arsénico total) sensiblemente más elevadas en las aguas subterráneas que en el agua superficial, pero no se encontraron valores de tAs mayores a $20 \mu\text{g L}^{-1}$ (valor admitido según la normativa vigente en Uruguay), salvo muy pocas excepciones (valores máximos referidos en la tabla 1: $22 \mu\text{g L}^{-1}$) y mayoritariamente entre 5 y $10 \mu\text{g L}^{-1}$ (valores admitidos según la normativa de la OMS).

DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

El área de estudio del Proyecto AsURU abarca, en principio todo el país, aunque se tiene previsto comenzar por los acuíferos principales que se ven afectados por el problema de As, por ende, se reduce el área de estudio a la región litoral oeste y suroeste del país, que abarca los acuíferos Mercedes y Raigón. Para cada uno de estos acuíferos se han seleccionado las áreas piloto, señaladas sobre la carta geológica de Uruguay (Bossi et al., 2012), en la figura 1.

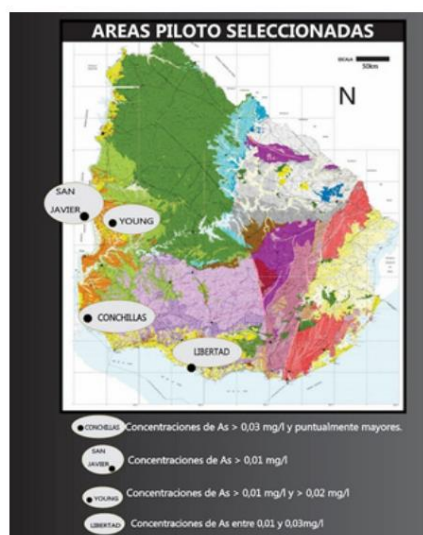


Figura 1. Mapa geológico de Uruguay (fuente: carta geológica 1:500.000 de Bossi et al. (2012); ver referencias geológicas en la figura 2), señalando las áreas piloto seleccionadas.

El Acuífero Raigón está conformado por la Formación Raigón, definida por Goso y Bossi (1966). Dicha unidad aflora en el litoral de los departamentos de Colonia, San José y Canelones; está compuesta por areniscas de granulometría variable, blancuzcas, con lentes y niveles de arcillas verdes y conglomerados y contiene concreciones calcáreas. Presenta estratificación rítmica, niveles lentiformes, estratificación paralela y cruzada y corresponde a un ambiente transicional continental fluvial, de acuerdo con Preciozzi y colaboradores (1985), así como con Spoturno y compañeros (1993). Su edad es Plioceno tardío-Pleistoceno medio, de acuerdo con Perea y Martínez (2004). Su límite infrayacente es la Formación Camacho y su límite suprayacente es la Formación Libertad.

El Acuífero Raigón se comporta como un acuífero confinado cuando es sobreyacido por la Formación Libertad y, en ocasiones, como un acuífero libre o aflorante. Los parámetros hidrodinámicos determinados por medio de pruebas de bombeo son transmisibilidad promedio de $264\text{m}^2/\text{d}$ y coeficiente de almacenamiento promedio de 6.5×10^{-3} , en tanto, los caudales específicos medios se estiman en $6\text{ m}^3/\text{h}/\text{m}$ (Heinzen et al., 2003) y los caudales medios en los pozos explotados son de $10\text{-}20\text{m}^3/\text{h}$ (Montaño et al., 2005). Desde el punto de vista hidrogeoquímico, se clasifican como aguas bicarbonatadas sódicas, sin presentar anomalías respecto a sus propiedades fisicoquímicas ni a los elementos mayoritarios y minoritarios. Sin embargo, se han constatado varios casos de valores de As por encima de la normativa vigente (hasta $40\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$).

Para el estudio de esta problemática en el Acuífero Raigón se seleccionan como áreas piloto las localidades Conchillas y Libertad (figura 1). Cabe destacar que en la localidad de Conchillas se extrae agua del acuífero poroso Raigón y del acuífero fisurado subyacente.

El basamento cristalino subyacente que conforma el acuífero fisurado en la zona de Conchillas corresponde a la faja granto-

gneíssica Florida, la cual se desarrolla entre los cinturones Arroyo Grande y San José (Bossi, 2012). Dicha faja es instruida por granitos post-tectónicos como la granodiorita Piedra Alta y el mismo granito-gneiss de Conchillas. Son comunes, además, los xenolitos de micaesquistos decamétricos dentro de los granitos y gneiss (Oyhantçabal et al., 2011).

Los Acuíferos Cretácicos sedimentarios del litoral del río Uruguay que nos abocan, son los correspondientes al Grupo Paysandú, en particular la Formación Mercedes, cuyo estudio debe ser enfocado dentro del sistema acuífero conformado por el Grupo Paysandú. Éste se extiende principalmente sobre los departamentos de Salto, Paysandú, Río Negro, Colonia, Flores y Durazno y ocupa aproximadamente $25,000\text{ km}^2$ (Goso, & Perea, 2004). Se apoya en discordancia sobre el basamento cristalino de edad Paleoproterozoica y sobre la Formación Arapey de edad Cretácico inferior.

La Formación Mercedes fue definida por Lambert (1989) y su edad fue asignada como Cretácico superior por Serra (1945). Goso y colaboradores (1999) describen litologías clásticas (conglomerados y areniscas) predominantes, frecuencia de litofacies calcáreas ferrificadas y silicificadas y subordinadamente litologías pelíticas. Este mismo autor divide la Formación Mercedes en dos miembros: (1) Miembro Yapeyú compuesto por: (a) areniscas finas de color blancuzco, bien seleccionadas, cuarzosas y feldespáticas, con cemento calcáreo, las cuales presentan laminación plano-paralela, laminación cruzada planar, gradación normal en los planos de foresets de estratificación cruzada planar y (b) pelitas con laminación plano-paralela y frecuentemente con estructuras de carga y con interlaminaciones de carbonatos; (2) el Miembro del Chileno compuesto principalmente por areniscas y conglomerados, de colores blanco grisáceo y amarillento. Los conglomerados son polimícticos y presentan megaclastos de cuarzo, basalto, granito, gneiss, cuarcitas y esquistos. Subordinadamente, aparecen

areniscas medias a gruesas, de color gris claro, con cemento calcáreo o silíceo. Es interpretado por Goso y colaboradores (1999) y por Goso y Perea (2004) como paleoambiente fluvial de canales estrechos con variaciones en las condiciones del flujo.

La Formación Mercedes conforma el Acuífero Mercedes, el cual es un acuífero continuo de extensión local a regional, libre o confinado, constituido por arenisca de selección variable de finas a conglomeráticas y de consolidación variable. La permeabilidad es media a alta y la profundidad de las perforaciones varía según este acuífero esté libre o confinado desde 20 a 120 metros respectivamente (Heinzen et al., 2003). El caudal específico obtenido en el caso del acuífero Mercedes en el área sur del Río Negro está en torno a 0.6 m/h/m, siendo el máximo relevado 3.8 m/h/m y el mínimo 0.05 m/h/m. Por su parte, en el norte del Río Negro se observa un aumento en el caudal específico del acuífero Mercedes, con un promedio de 1.03 m/h/m, con un valor máximo de 6.5 m/h/m y mínimo de 0.05 m/h/m, de acuerdo con valores medios estimados por

Bonjour (2013), a partir de datos de Proyecto PRENADER y perforaciones de MEVIR. La transmisividad tiene un promedio de 36 m/día con extremos de 0.667 a 189 m/día y los coeficientes de almacenamientos son indicativos del confinamiento del acuífero (Bonjour, 2013). Hidroquímicamente se clasifica como de aguas bicarbonatadas cálcica, de calidad química generalmente buena, sin anomalías importantes respecto a los elementos mayoritarios y minoritarios (Heinzen et al., 2003). Sin embargo, se han constatado varios casos de valores de As por encima de la normativa vigente.

Con el fin de abordar el tema en los Acuíferos Cretácicos del litoral del Río Uruguay se seleccionaron como áreas piloto las localidades de Young y San Javier (figura 1).

Sin embargo, la investigación se encuentra en fase inicial, por lo que se presenta aquí una revisión general de los acuíferos a estudiar, sin entrar en detalles acerca de las áreas piloto, las cuales serán objetivo de estudio en fases posteriores.

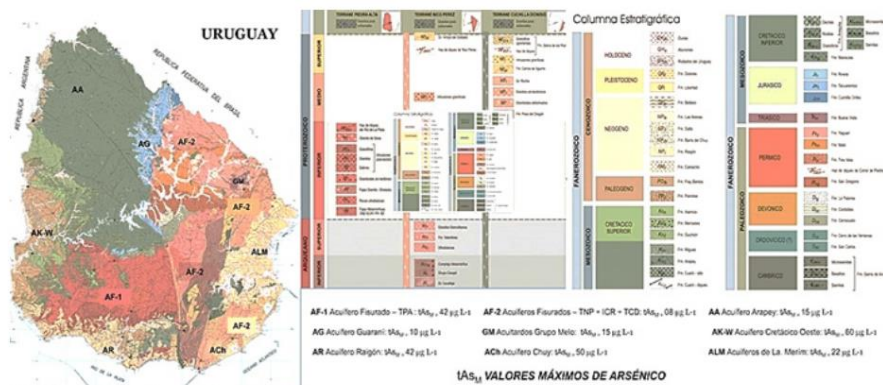


Figura 2. Mapa geológico de Uruguay, muestra valores máximos de los principales acuíferos, en relación con la geología. Nótese los valores elevados de concentración de As en agua subterránea (valores máximos de As total) para los Acuíferos Raigón (AR); Chuy (ACh), Cretácicos del litoral oeste y para el basamento cristalino en el Terreno Piedra Alta (TPA) que conforma acuíferos fisurados (AF-1).

METODOLOGÍA

El plan de trabajo que se lleva a cabo en el marco del Proyecto AsURU consiste en: (a) identificación de los acuíferos de Uruguay con presencia de As; (b) división en zonas de estudio; (c) selección de un área piloto de extensión local en cada zona, para su estudio, las cuales deben cumplir con criterios de selección establecidos: i) ser abastecidas por acuíferos de agua subterránea con valores de As superiores a la norma, ii) representar una extensión superficial significativa del acuífero contaminado, iii) tener conocimiento del acuífero (libre, semiconfinado o confinado),

potencia, productividad, etc., iv) conocer datos generales sobre el número de personas afectadas y tiempo de exposición, y v) tener evidencias de afectaciones a la salud en poblaciones con consumo de agua subterránea contaminada con As, según un registro histórico; (d) estudio hidrogeológico, hidrodinámico e hidrogeoquímico, con la finalidad de identificar el origen del As y su movilidad espacio-temporal; (e) identificación y selección de la población presuntamente afectada en el área piloto y evaluación de su exposición al As a través del agua; y (f) proponer soluciones a nivel de construcción de perforaciones y a nivel de remediación.

Tabla 1. Datos preliminares de tAs de las perforaciones de los diferentes acuíferos de Uruguay, interpretados de datos brindados por la OSE, expuestos en el I Simposio de Arsénico en agua subterránea (2018). Se señalan en **negrita** los valores que exceden la normativa vigente

UNIDAD HIDROGEOLÓGICA	UNIDAD GEOLOGICA	Número de pozos	tAs Máximo (µg L ⁻¹)	tAs Mínimo (µg L ⁻¹)	tAs Promedio (µg L ⁻¹)
Acuífero Chuy	Areniscas ferrificadas de la Formación Chuy	147	50	10	11
Acuífero Raigón	Areniscas y conglomerados de la Formación Raigón, con niveles pelíticos	72	42	05	15
Acuíferos adyacentes a la Laguna Merín	Sedimentos cuaternarios	9	22	0	09
Acuíferos Cretácicos del Litoral oeste	Grupo Paysandú	65	60	0	20
Acuíferos Cretácicos del sur	Formaciones Migue y Mercedes	46	40	20	10
Acuífero Escurado Arapey	Formación Arapey (basaltos tholeíticos)	84	14	05	8
Acuífero Guaraní	Formaciones Riviera, Tacuarembó, Cuchilla Ombó y Buena Vista	71	10	0	05
Acuíferos pobres de Formación Tres Islas	Formación Tres Islas	18	14	0	12
Acuitados - Grupo Melo	"Peltas grises" - Grupo Melo	23	15	06	10
Acuífero Escurado - Terreno Piedra Alta	Cinturones metamórficos y Faja Granítica Florida	130	42	05	13
Acuífero Escurado - Terrenos Nico Pérez y Cuchilla Dionisio	Terrenos granto- metamórfico heterogéneos	125	08	05	07
Acuífero Escurado - Isla Cristalina Rivera	Relicto correspondiente al Terreno Nico Pérez	16	08	08	08

RESULTADOS

Se presentan los resultados de la recopilación y ordenamiento de datos acerca de los valores de As total (tAs) para los principales acuíferos de Uruguay, brindados por la OSE, en el cuadro comparativo de la tabla 1. Por una parte, se puede apreciar que afortunadamente el Acuífero Guaraní presenta concentraciones máximas que estarían por debajo del valor máximo permitido (V.M.P.) según las normas de la OMS. En el Acuífero Arapey, las concentraciones de As no exceden el V.M.P., según las normas UNIT, vigentes en Uruguay, pero sí el V.M.P. según las normas de la OMS ($10 \mu\text{g L}^{-1}$). En los acuíferos de la zona de la Laguna Merín, exceden levemente el V.M.P. según la normativa UNIT. Por otra parte, en el mapa geológico de la figura 2 se representan los valores máximos de As de los principales acuíferos de Uruguay, en correlación con las unidades geológicas que los representan. Los valores más elevados corresponden a los acuíferos Cretácicos del Grupo Paysandú ($60 \mu\text{g L}^{-1}$); al Acuífero Raigón ($41 \mu\text{g L}^{-1}$); y a los acuíferos fisurados del Terreno Piedra Alta, conformado por rocas del basamento cristalino al oeste de la zona de cizalla Sarandí del Yí ($42 \mu\text{g L}^{-1}$).

En esta fase preliminar del Proyecto AsURU se ha investigado y definido teóricamente el comportamiento del As en el agua subterránea: (1) el buen drenaje favorece la disolución de ceniza volcánica y oligoelementos asociados (F, V, U, B, Sb) en las aguas subterráneas y en particular en las aguas subterráneas someras (RSA, 2018). (2) La geodisponibilidad de As es determinante (RSA, 2018). (3) El factor geológico más relevante es la litoestratigrafía y la mineralogía, por ende, deben determinarse: (a) la presencia de loess volcánico con aporte de ceniza volcánica, como ocurre en la Formación Libertad y capas interestratificadas de la Formación Raigón (aunque con escasas evidencias expuestas por Guerequiz et al.; Mañay et al., (2019); Gagliardi et al., sugieren que se registra una correlación entre la concentración de As en

los sedimentos y la del agua en los niveles permeables más cercanos. A su vez la mayor concentración de As en roca se da en la base de la Formación Fray Bentos sobreyacente y en el contacto con el nivel ferrificado de la Formación Mercedes (Asencio), lo que podría estar asociado a los óxidos de hierro en esta última y/o a la presencia de vidrio volcánico en limolitas de la Formación Fray Bentos); (b) la identificación de vidrio volcánico, teniendo en cuenta su composición (As, Se, U, Sb, Mo), aún no determinado para los acuíferos de Uruguay; y (c) una posible fuente volcánica de tipo andesítico (SiO_2 elevado), la cual se puede asociar con el vulcanismo andino para el caso de estudio de proveniencia de la ceniza volcánica en los sedimentos del litoral oeste y suroeste de Uruguay. Es de destacar que, si bien no existen estudios sobre el basamento cristalino a este respecto, la afinidad andesítica de los diques básicos del Terreno Piedra Alta [29], podría sugerir la posibilidad de una mineralogía que implique la geodisponibilidad de As en el basamento. (4) Con base en las reacciones hidrogeoquímicas generales, se puede establecer que la hidrólisis de aguas bicarbonatadas cálcicas con alto pH favorece la disolución y concentración de metales pesados, como el As. Y (5) en el agua subterránea están presentes las especies inorgánicas As (III) y As (V), de mucha mayor toxicidad que las especies orgánicas [10].

Asimismo, se han identificado las posibles causas del origen de As en el agua subterránea, debiendo comprobarse esto en las áreas piloto definidas. Esto será evaluado en el transcurso del proyecto aceptado recientemente por el Centro Tecnológico del Agua (CTAGUA). La causa más probable para el caso del Acuífero Raigón es la presencia de As en los niveles de sedimentos limosos que se interestratifican en la Formación Raigón y, a su vez, en la Formación Libertad. Éstos contienen ceniza volcánica, de acuerdo con observaciones de vidrio volcánico en estos niveles limosos (Mañay et al., 2019). Aquellos sedimentos limosos interestratificados en la Formación

Raigón, si bien conforman niveles coasi-impermeables o impermeables, podrían conferirles a los estratos de grano más grueso de esta unidad (niveles permeables) aporte de ceniza volcánica. En tanto, los sedimentos limosos de la Formación Libertad que contienen ceniza volcánica también podrían estar confiriéndole aporte de ceniza volcánica a los niveles infrayacentes de la Formación Raigón a través de la infiltración de agua por goteo, cuando la Formación Libertad se comporta como un acuitardo. Machado y colaboradores (2019b) estudiaron la incidencia del tAs e inorgánico en agua subterránea destinada al consumo humano en Uruguay, así como su correlación con el fluor, hierro, manganeso y sulfato. Estos autores identificaron correlaciones de Pearson en los pares tAs / F⁻, As (V) / F⁻ y As (V) / S O₄²⁻, de acuerdo con las características de los diferentes ambientes geológicos (pH, nivel de oxidación, etc.). La fuerte correlación de tAs con F⁻ apoya la hipótesis de una fuente de vidrio volcánico, para el oeste del país (Guerequiz et al., 2006). La correlación de los valores de pH y tAs contribuye a confirmar esta hipótesis (Machado et al., 2019).

Al mismo tiempo se ha avanzado en estudios respecto a la incidencia del As en la salud en el territorio uruguayo, como se ha explicado más arriba [Kordas et al., 2016; Mañay et al., 2019; Desai, 2020].

DISCUSIÓN

El Proyecto AsURU ha avanzado en la selección de las áreas piloto (figura 1) con elevada concentración de As en el agua subterránea, respecto a los valores máximos permitidos vigentes en el país de 20 µg L⁻¹ y con perspectivas de bajar el límite a 10 µg L⁻¹ en 2021. Se han realizado encuentros, reuniones y el "I Simposio de Arsénico en agua subterránea en Uruguay", organizado por la Facultad de Ciencias, con la participación del Centro Regional para la Gestión de agua subterránea (CeReGas), propuesto como entidad articuladora, OSE, Movimiento pro-Eradicación de Vivienda Rural Insalubre (MEVIR), Dirección Nacional

de Medio Ambiente y Ordenamiento Territorial (DINAMA), Dirección Nacional de Agua (DINAGUA), Ministerio de Salud y las Facultades de Química, Ingeniería y Medicina. Asimismo, se han creado grupos de trabajo, se han reportado avances en IMGA (*International Medical Geology Association*) por parte de una de las coordinadoras del proyecto: Nelly Mañay, así como se ha presentado el proyecto en oportunidades de financiación; fue aprobado recientemente un subproyecto, por el Comité Evaluador del Centro Tecnológico del agua (CTAguA). En esta primera instancia también se han suscitado dificultades en cuanto al involucramiento de los diferentes autores para llevar adelante el proyecto de forma integral, la falta de recursos y priorización del problema (Collazo et al., 2019). Actualmente se está investigando la litoestratigrafía y quimioestratigrafía de las unidades geológicas para determinar el origen del As en los acuíferos que abarcan las principales zonas identificadas y a partir de allí establecer el contexto real para comenzar a dar soluciones. Es importante destacar que el estudio litoestratigráfico y quimioestratigráfico para identificar niveles con concentraciones de As elevadas se está realizando por primera vez en el país.

Respecto al tema de riesgo de salud son importantes los resultados de Mañay y colaboradores (2019) como una aproximación para estimar el riesgo: se observa una correlación entre los casos de cáncer y zonas del país donde el agua de pozos presenta niveles elevados de As. Se desconoce el consumo de dicha agua. Además, es necesario recalcar que el cáncer es multicausal, por lo que se detectan variables de confusión para dicha asociación. La superposición de los datos del atlas uruguayo de cáncer con los niveles de As en el agua potable de los pozos puede ser una herramienta potencial para estimar la contribución de As a la incidencia de cáncer. En particular, es importante formalizar acuerdos con agencias gubernamentales, ministerios y otras organizaciones, desarrollar un marco común y compartir los datos disponibles para crear registros de alta calidad que sean útiles

para fines de investigación. Este estudio basado en un enfoque de Geología Médica podría ser un primer paso para mejorar la salud pública como prevención, aunque muchas otras causas ambientales pueden estar influyendo en la incidencia de cáncer en la misma región. Para continuar este tipo de estudios y extenderlo a otros tipos de cánceres asociados al As, sería importante contar con la caracterización geoquímica, mapeo geográfico y mapas de evaluación de riesgos.

Respecto a la caracterización hidrogeológica es menester el estudio del comportamiento hidrodinámico espaciotemporal del As en el agua subterránea. Para ello, se debe tener en cuenta que el As (V) y As (III) se encuentra con mayor frecuencia en aguas subterráneas someras, para el caso de acuíferos sedimentarios, pero difícilmente se podrá establecer una distribución espacial como modelo. En el caso de acuíferos fisurados, el comportamiento es obviamente aún más heterogéneo y no puede tomarse la profundidad como factor determinante. Sobre el origen del As, se sugiere que la causa más probable —estudiando el caso de la Formación Raigón—, es la presencia de ceniza volcánica. La comprobación de esta hipótesis se debería fundamentar con fehacientes resultados geoquímicos realizados para los diferentes niveles dentro de la Formación Raigón, complementando los resultados generales presentados por Machado y colaboradores (2019b) para el país, haciendo esto específico para la Formación Raigón. Dichos análisis están previstos a ser realizados en el marco del Proyecto AsURU (subproyecto aceptado recientemente por CTAguA, con la empresa Eface S. A.); y son esperables resultados de análisis que indiquen la presencia de anomalías de As acompañadas con anomalías de oligoelementos asociados en presencia de ceniza volcánica y de vidrio volcánico.

Para el caso de los acuíferos fisurados subyacentes en la zona de Conchillas se sugieren dos hipótesis: (1) que el As proviene de los niveles superiores (As en

ceniza volcánica en la Formación Raigón y Formación Libertad) por infiltración; (2) que el As proviene de los minerales de las rocas ígneas y metamórficas del propio basamento. Un indicio que tiende a comprobar la primera hipótesis es la concentración de As más elevada en las perforaciones más someras (que extraen agua de la Formación Raigón) que en las perforaciones de mayor profundidad (que extraen agua del acuífero fisurado), cuando esta formación sedimentaria se apoya directamente sobre el basamento cristalino, de acuerdo con datos de OSE no publicados.

Respecto al tema de remediación, existen antecedentes de investigación por la Red IBEROARSEN (Morgada et al., 2019; Litter, 2010), lo cual será tenido como referencia en el arriba referido proyecto recientemente aceptado por CTAguA a realizarse por Eface S. A./Facultad de Ciencias/Facultad de Química: "Mitigación de arsénico en agua subterránea".

CONCLUSIONES

Se reconoce la necesidad inmediata de dar una solución al problema de las elevadas concentraciones de As en los acuíferos de Uruguay, con prioridad de comenzar con dos acuíferos de importante productividad, los cuales se ven afectados por este problema, como lo son el Acuífero Raigón y el Acuífero Mercedes.

Como conclusión respecto al tema de salud, habiendo reconocido el problema, se debe continuar avanzando y profundizando en los estudios de incidencia del As en la salud en los diferentes sectores de la población, discriminando la incidencia en la salud de la exposición al As orgánico e inorgánico y en sus diferentes estados de oxidación, y tomar en cuenta el consumo de agua subterránea, así como también de alimentos que contienen niveles bajos de As.

Hidrogeológicamente se ha avanzado en un marco teórico, tanto desde el punto de vista hidrodinámico como hidrogeoquímico, lo cual debe comprobarse en la práctica. Respecto al tema del origen del As, deben

comprobarse las hipótesis planteadas, recurriendo a análisis litológicos, mineralógicos y geoquímicos de roca de los diferentes niveles acuíferos, como está planteado a realizarse en el marco del Proyecto aceptado recientemente por CTAguá. Conocer el origen y la hidrodinámica es fundamental para estudiar las posibilidades de remediación. Si, por ejemplo, se detectaran niveles con As por disolución de ceniza volcánica, éstos podrían funcionar como “marcadores” y podrían ser tratados para remediar pozos in situ, o bien, podrían ser tenidos en cuenta a la hora de realizar nuevas perforaciones, donde estos niveles podrían ser sellados para extraer agua de los niveles libres de As. Esto requerirá, por supuesto, un estudio detallado de la hidrodinámica, el comportamiento y direcciones del flujo subterráneo, así como litoestratigráficos y quimioestratigráficos.

REFERENCIAS

- Bonjour, M. (2013). Heterogeneidades hidrogeológicas de la Cuenca del Río Uruguay (Trabajo final de grado). Montevideo: Facultad de Ciencias.
- Bossi, J., Ferrando, L., Montaña, J., Campal, N., Morales, N., Gancio, F., Schipilov, A., Piñeiro, P., & Sprechman, P. (1998). Carta geológica del Uruguay 1/500.000, Cátedra de Geología - Facultad de Agronomía. Geoditores.
- Bossi, J., Preciozzi, F., & Campal, N. (1993). Predevoniano del Uruguay. Parte 1: Terreno Piedra Alta (pp. 1-50). Montevideo: DINAMIGE.
- Collazo, P., Mañay, N., & Pamoukaghlián, K. (2019). Proyecto AsURU: Arsénico en agua subterránea de Uruguay y riesgo a la salud asociado. Avances y dificultades en su gestión, Actas IX Congreso Uruguayo de Geología, Flores, Uruguay.
- CHLCC. (2014). Comisión Honoraria de Lucha Contra el Cáncer, IV Atlas de Incidencia del cáncer en el Uruguay. Montevideo, Uruguay. Recuperado de https://www.comisioncancer.org.uy/Ocultas/V-Atlas-de-incidencia-del-Cancer-en-Uruguay-Periodo-2012-2016-uc92_
- Desai, G., Barg, G., Vahter, M., Queirolo, E., Peregalli, F., Mañay, N., Millau, A. E., Yu, J., Browne, R. W., & Kordas, K. (2020). Low level arsenic exposure, B-vitamins, and achievement among uruguayan school children. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 223, 124-131.
- DINAMIGE. (2009). Dirección Nacional de Minería y Geología, Estimación de la extracción de aguas subterráneas. Principales acuíferos del Uruguay. Recuperado de http://www.miem.gub.uy/sites/default/files/estimacion_de_extraccion_anual_de_aguas_subterraneas_en_los_principales_acuiferos_del_uruguay.pdf
- Falchi, L., Pizzorno, P., Iaquina, F., & Cousillas, A. (2018). Relevamiento de la concentración de arsénico total en agua proveniente de varias fuentes en una zona arrocería de Uruguay. *Revista del Laboratorio Tecnológico de Uruguay*, INNOTEC, 17, 10-17.
- Gagliardi, S., Oyhancaabal, P., & Pérez, A. (2016). Variación vertical de la concentración de Arsénico y posible relación con la litología. Acuífero Mercedes, Agraciada, Soriano, Actas VIII Congreso Uruguayo de Geología, Montevideo.
- Goso, H., & Bossi, J. (1966). Cenozoico. Geología del Uruguay (pp. 259-305). Montevideo: Universidad de la República.
- Goso, C., & Perea, D. (2004). El Cretácico post-basáltico de la Cuenca Litoral del río Uruguay: Geología y Paleontología. En G. Veroslavsky, M. Ubilla, & S. Martínez (Eds.). Cuencas sedimentarias de Uruguay (pp. 143-171). Montevideo: Universidad de la República.
- Goso, H., Perea, D., Perinotto, J. A. J. (1999). Análisis de facies y paleogeografía de la Formación Guichón (Cretácico Inferior) en la cuenca del litoral, Uruguay. *Revista SUG*, 3, 6, 2-15.
- Guerequiza, A. R., Mañay, N., Goso-Aguilar, C., & Bundschuh, J. (2006). Evaluación de riesgo ambiental por presencia de arsénico en el sector oeste del acuífero Raigón, Departamento de San José, Uruguay.

- Presentación del proyecto. *Libro de actas del taller de distribución del arsénico en Iberoamérica*. Buenos Aires, Argentina: Red Temática 406RT0282 IBEROARSEN, Centro Atómico Constituyentes.
- Heinzen, W., Veloza, C., Carrión, R., Cardozo, L., Madracho, H., & Massa, E. (2003). Carta Hidrogeológica del Uruguay. Escala 1: 200.000.
- Kordas, K., Queirolo, E. I., Mañay, N., Peregalli, F., Hsiao, P. Y., Lu, Y., & Vahter, M. (2016). Low-level arsenic exposure: nutritional and dietary predictors in first-grade Uruguayan children. *Environmental research*, 147, 16-23.
- Lambert, R. (1939). Memoria explicativa de la Carta Geológica de los terrenos sedimentarios y las rocas efusivas del departamento de Durazno, Instituto Geológico del Uruguay, Montevideo. Boletín No25, 1-37.
- Litter, M. I., Sancha, A. M., & Ingallinella, A. M. (2010). IBEROARSEN, Tecnologías económicas para el abatimiento de arsénico en aguas.
- Machado, I., Bühl, V., & Mañay, N. (2019a). Total arsenic and inorganic arsenic speciation and their correlation with fluoride, iron and manganese levels in groundwater intended for human consumption in Uruguay. En *Environmental Arsenic in a Changing World: Proceedings of the 7th International Congress and Exhibition on Arsenic in the Environment (AS 2018)*, July 1-6, 2018, Beijing, PR China, p. 217, CRC Press, Agosto de 2019.
- (2019b). Total arsenic and inorganic arsenic speciation in groundwater intended for human consumption in Uruguay: Correlation with fluoride, iron, manganese, and sulfate. *Science of The Total Environment*, 681, 497-502. Doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.05.107
- Mañay, N., Goso, C., Pistón, M., Fernández-Turiel, J. L., García-Vallés, M., Rojas, M., & Guerequiz, R. (2013). Groundwater arsenic content in Raigón aquifer system (San José, Uruguay). *Revista SUG*, 18, 20-38.
- Mañay, N., Pistón, M., Cáceres, M., Pizzorno, P., & Bühl, V. (2019). An overview of environmental arsenic issues and exposure risks in Uruguay. *Science of the total Environment*, 686, 590-598.
- Montaño, J., Gagliardi, S., & Montaño, M. (2005). Recursos hídricos subterráneos del Uruguay. Importancia y aprovechamiento actual. *Revista SUG*, 12, 16-32.
- Morgada, M. E., Mateu, M., Bundschuh, J., & Litter, M. I. (2008). Arsenic in the Iberoamerican region. The IBEROARSEN Network and a possible economic solution for arsenic removal in isolated rural zones. *e-Terra*, 5(5), 1-11.
- OSE. (2016). Obras Sanitarias del Estado, Impacto en los sistemas de abastecimiento de agua del cambio de valor máximo permitido de 20 a 10 $\mu\text{g L}^{-1}$, 2016.
- Oyhantçabal, P., Siegesmund, S., & Wemmer, K. (2011). The Río de la Plata Craton: a review of units, boundaries, ages and isotopic signature. *International Journal of Earth Sciences*, 100, 201-220.
- Perea, D., & Martínez, S. (2004). Estratigrafía del Mioceno-Pleistoceno en el litoral suroeste de Uruguay. En G. Veroslavsky, M. Ubilla, & S. Martínez (Eds.), *Cuencas sedimentarias de Uruguay, Cenozoico* (pp. 105-124)co. Montevideo: Ediciones DIRAC, Facultad de Ciencias.
- Preciozzi, F., Spoturno, J., Heinzen, W., & Rossi, P. (1985). Carta geológica del Uruguay a escala 1: 500.000. Montevideo: Dirección Nacional de Geología y Minería.
- RSA. (2018). Arsénico en agua, informe del Grupo Ad-Hoc Arsénico en agua de la Red de Seguridad Alimentaria de CONICET. Recuperado de <https://rsa.conicet.gov.ar/wp-content/uploads/2018/08/Informe-Arsenico-en-agua-RSA.pdf>
- Serra, N. (1945). Memoria explicativa del mapa geológico del departamento de Soriano, Instituto Geológico del Uruguay. Boletín 32, 1-42.

- Spoturno, J., Oyhançabal, P., Goso, C., Aubet, N., Cazaux, S., Huelmo, S., & Loureiro, J. (1993). Análise faciológica e paleogeográfica da sequência mio-pliocenicos do setor occidental da bacia de Santa Lucia (Uruguai). En Boletim Resumos V Simposio sul brasileiro de Geología, 33-34.
- UNIT. (2010). Agua Potable-Requisitos. Recuperado de <http://www.aiqu.org.uy/documentos/medioambiente/unit.pdf>
- WHO. (2010). Exposure to arsenic; a mayor public health concern. Recuperado de World Health Organization: <http://www.who.int/ipcs/features/arsenic.pdf?ua=1>



Contents lists available at ScienceDirect

Science of the Total Environment

journal homepage: www.elsevier.com/locate/scitotenv

An overview of environmental arsenic issues and exposure risks in Uruguay

N. Mañay^{a,*}, M. Pistón^b, M. Cáceres^c, P. Pizzorno^a, V. Bühl^{b,*}^a Centro Especializado en Química Toxicológica (CEQUIMTOX) Toxicology Area, DEC, Faculty of Chemistry, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay^b Grupo de Análisis de Elementos Trazo y Desarrollo de Estrategias Simples para Preparación de Muestras (GATPREM), Analytical Chemistry, DEC, Faculty of Chemistry, Universidad de la República, Gral. Flores 2124, Montevideo, Uruguay^c Faculty of Sciences, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

HIGHLIGHTS

- Multidisciplinary As reports and research studies are being addressed in Uruguay.
- Recently, groundwater As levels have become an issue of concern in Uruguay.
- Uruguayan population studies on low-dose As exposure health risks are scarce.
- New academic research is being conducted in Uruguay to approach these problems.

GRAPHICAL ABSTRACT



ARTICLE INFO

Article history:

Received 15 November 2018

Received in revised form 21 May 2019

Accepted 29 May 2019

Available online 30 May 2019

Editor: Prosun Bhattacharya

Keywords:

Uruguay

Arsenic

Drinking water

Low-dose exposure

Health risks

ABSTRACT

Evidence for low-dose health effects of Arsenic (As) in humans is still controversial and presents a major public health issue in several countries worldwide. It is not clear yet, whether there is a lower safe threshold for arsenic in drinking water among other possible sources such as food, below which, exposures are not harmful.

In Uruguay, safe drinking water is supplied to 94% of the population by a state company (OSE) and As levels in workplaces and food are officially regulated.

This paper aims to present and discuss the issues regarding arsenic exposure risks to the environment and human population, which are being addressed in a multidisciplinary manner in Uruguay since 2007. An overview is given on both the background and the current situation, presenting reports and research studies conducted on these problems by various academic, state, and private institutions that deal with regulations, surveillance, and health care.

Scientific research on geogenic As levels in groundwater indicates As levels above those recommended by the WHO for drinking water ($10 \mu\text{g L}^{-1}$) in different Uruguayan aquifers. There is a lack of baseline studies concerning Uruguayan residents that are exposed to As in drinking water over time. Furthermore, there is a need for data on environmental chemical exposure that could be associated with disease or death in the country.

* Corresponding authors.

E-mail addresses: nmanay@fq.edu.uy (N. Mañay), vbuhl@fq.edu.uy (V. Bühl).

In addition, only a few As risk exposure assessment studies in children, adults, and workers using biomarkers in urine are available.

Furthermore, this paper presents As levels in a rice growing region and the spatial distribution of groundwater arsenic data compared to a national cancer atlas database as ongoing research advances. Multidisciplinary research projects and local future actions are also described.

This contribution constitutes a first attempt to develop a feasible health risk assessment of low-dose arsenic exposure in this Latin-American country.

© 2019 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Inorganic arsenic compounds are classified by the International Agency for Research on Cancer (IARC) as Group 1 compounds (carcinogenic to humans) based on sufficient evidence for its carcinogenicity to humans and limited evidence for its carcinogenicity to animals (IARC, 2018).

Globally, evidence for the low-dose effects of arsenic (As) is still controversial. However, the risk of diabetes, heart disease, immunological problems, and cancer could be increased if geogenic arsenic is present in groundwater even at low levels. Many studies have showed that long-term exposure to arsenic through drinking water and food is causally related to increased risks of cancer related to the skin, lungs, bladder, and kidney as well as other skin pathologies (IPCS, 2001). Long-term exposure has also been associated with cardiovascular disease and diabetes, and As exposure “in utero” as well as in early childhood has been linked to negative impacts on cognitive development and increased deaths in young adults. Furthermore, the increased risks of lung and bladder cancer and As-linked skin lesions have been reported to be correlated to the ingestion of As contaminated drinking water (from wells) at concentrations $\leq 50 \mu\text{g L}^{-1}$. However, it is unclear if there is a lower threshold below which the exposure to As is not harmful regarding both water and other sources such as contaminated food (IPCS, 2001; Schmidt, 2014; WHO, 2018).

Uruguay is one of the smallest South American countries and is located in the southeastern region of the continent. It has a surface area of $176,215 \text{ km}^2$ ($68,037 \text{ sq mi}$) and 19 administrative territorial divisions (i.e., departments). The country has a population of approximately 3.3 million people, with almost 40% residing in the capital city, Montevideo (INE, 2011). The life expectancy at birth is 77.6 years (UNDP, 2018) and the country's economy is mainly based on the agricultural sector. According to the World Bank's Human Opportunity Index, Uruguay has managed to attain a high level of equality of opportunity in terms of access to basic services such as education, running water, electricity, and sanitation (World Bank, 2017).

Drinking water is supplied to 94% of the population by the state company Obras Sanitarias del Estado (OSE, 2018) and includes the national program “Movement for the Eradication of Sub-standard Rural Housing” approved by OSE (MEVIR, 1995, 2014). Only 28% of all drinking water supplied by OSE is provided from groundwater sources, while the majority of the population receives drinking water from surface water sources.

In 2010, sanitary authorities lowered the maximum permitted As concentration level in drinking water from $50 \mu\text{g L}^{-1}$ to the target value of $10 \mu\text{g L}^{-1}$ as recommended by the World Health Organization (WHO) guidelines (WHO, 2011), with a provisional level of $20 \mu\text{g L}^{-1}$ (UNIT, 2010). Since then, the concentration levels of As in groundwater that is used for consumption has become an issue of concern and of geochemical-environmental relevance.

In 2016, OSE worked on a report on the “Impact on the water supply system of the change of the maximum allowed value of 20 to $10 \mu\text{g L}^{-1}$ ” to evaluate wells that contain water with As levels of between 10 and $20 \mu\text{g L}^{-1}$ and in order to estimate the investment necessary to reach the As limit of $10 \mu\text{g L}^{-1}$ for drinking water (OSE, 2016).

In terms of other regulations regarding As exposure and associated health effects, regional and national guidelines have established As concentration limits for food and all beverages, including bottled water (Reglamento Bromatológico Nacional, 1994). In addition, a legal sanitary framework exists that regulates the occupational exposure of workers using health controls and the biomonitoring of inorganic arsenic and metabolites in urine as exposure biomarkers (MSP, 2009). Furthermore, the legislative Decree 253/79 (including modifications of Decree 232/88, 698/89, and 195/91) has established legal regulations to prevent the environmental pollution of surface water sources that are classified in different categories according to their use. Class 1 sources are water resources intended or potentially intended to supply drinking water with conventional treatment. In this class, arsenic levels should be $<5 \mu\text{g L}^{-1}$ (Decree 253/79, 1979).

In spite of all regulations establishing safe As limits for water, food, and workplaces, there is a lack of baseline studies concerning the exposure risks of both the general population and workers to “non-occupational” sources of As such as groundwater over time. Moreover, there is a need for national epidemiological studies on the Uruguayan population to evaluate and prevent long-term health effects resulting from exposure to low-doses of As.

To address this concern, recent research and surveillance studies have been carried out to assess the situation and to comply with both the WHO guidelines for drinking water ($\text{As} < 10 \mu\text{g L}^{-1}$) and the current Uruguayan regulations. Geological, environmental, and health issues related to low levels of arsenic exposure are now the focus of many studies and use a multidisciplinary approach, such as that of Medical Geology, to evaluate impacts on public health and to develop reference studies concerning arsenic levels in Uruguay. Furthermore, research teams with similar aims, and experts from the geosciences, biosciences, and chemistry have joined forces to address the As exposure risk related problems (Mañay, 2010).

The objectives of this paper are to succinctly and comprehensively present the latest information regarding studies and technical reports focused on As-related environmental issues and exposure risks in Uruguay, including those from various Uruguayan academic, state, and private institutions. In addition, we describe advances in ongoing multidisciplinary research on groundwater with the aim of preventing population health risks related to As exposure. Furthermore, we report on recent approaches used to address arsenic-related problems in Uruguay, and promote new studies and future plans, as well as provide context and scientific rationale for further research.

2. Materials and methods

This study is based on an overview of available studies and reports by various academic, state, and private institutions between 2007 and 2019 on both the background and the current situation regarding environmental arsenic exposure risks in Uruguay. In addition, preliminary results from ongoing research focusing on geological, analytical, and toxicological As aspects are described.

In order to gain a clear overview, reviewed documents and research results were collated in the following three topics: As in drinking water, As exposure risks, and future actions. All analytical As results taken into account in this paper were obtained from official or academic

laboratories and performed using standardized methods (APHA, 2012) or validated methodologies, with reported quality assurance and controls.

Table 1 presents a list of the main documents and research results produced from 2007 to 2019, and described in this paper.

Table 2 presents data resources concerning ongoing research from which preliminary results are presented.

3. Results and discussion

3.1. As in drinking water

The geological profile of the main aquifers of Uruguay as described by Collazo and Montaña (2012) show great variability due to the rocky substratum of the country, from sedimentary basins with good porosity and permeability to areas of crystalline basement where the water is lodged in a system of interconnected faults, giving rise to porous and fissured aquifers (Fig. 1).

The territory is divided into three hydrogeological provinces, namely the Asencio-Mercedes hydrogeological system in the Paranaense Province that falls in the western zone of the area and formed by fine and medium sandstone of medium permeability and does not exceed 10 meter-thickness; the western part of the Southern Provinces, made up of pre-Cambrian rocks from the Piedra Alta Terrane giving fissured aquifers; and the Raigón aquifer in the Coastal Province, consisting of a tertiary-quaternary sedimentary complex and the loess-

Table 1
Selected As studies and reports produced from 2007 to 2019 in Uruguay.

Reference	Type of report	Research area
Collazo and Montaña (2012)	Peer reviewed report	As in drinking water
DINAMIGE (2009)	Official report	As in drinking water
Manganelli et al. (2007)	Peer reviewed report	As in drinking water
Mañay et al. (2013)	Peer reviewed report	As in drinking water
OSE (2018)	Official data from web page	As in drinking water
MEVIR (1995)	Official data from web page	As in drinking water
Montaña et al. (2016)	Peer reviewed report	As in drinking water
UNIT (2010)	National Technical Standards report	As in drinking water
Bühl et al. (2015)	Peer reviewed report	As exposure risks
Occupational Good Practices Guide on Wood Impregnation (2007)	Local health recommendations in occupational health practices.	As exposure risks
Bühl et al. (2018)	Peer reviewed report	As exposure risks
Iaquina et al. (2012)	Peer reviewed report	As exposure risks
Kordas et al. (2016)	Peer reviewed report	As exposure risks
CEREGAS (2018)	Official information from web page	Future actions

Table 2

Data resources related to ongoing research studies.

Reference	Type of report	Research area
CHLCC (2014, 2018)	Official data from webpage	Exposure risks
OSE (2016)	Internal report to health authorities	As in drinking water
MEVIR (2014)	Internal report to health authorities	As in drinking water
Mañay (2017)	Conference proceedings	Exposure risks
Cáceres and Mañay (2018)	Conference abstract	Exposure risks
Falchi et al. (2019)	Peer reviewed report	As in water resources

formed Libertad formation from the Pliocene age that, to a large extent, forms the roof of the aquifer (Collazo and Montaña, 2012).

In 2009, the National Administration of Mining and Geology (DINAMIGE) published a report containing the annual estimate of groundwater extraction, taking into consideration the lack of data regarding registration and current status of all drilled wells and the fact that some abandoned wells have been replaced. This report indicates a greater use of the aquifers in the southern and western regions of the country, of the order of 10^7 m³/year and average flows ranging from 4.1 m³/h to 23.6 m³/h in the Raigón aquifer (DINAMIGE, 2009).

Geogenic As in groundwater has been studied in several Uruguayan aquifers. The first background research study in Uruguay was reported by Manganelli et al. in 2007, who measured As levels and distribution in groundwater from the south-west of Uruguay. This preliminary study was performed on 28 samples from the Chuy, Raigón, and Mercedes Aquifers and reported As concentrations that exceeded some of the Uruguayan water quality regulations prior to the application of the new regulation for As limits in drinking water. The median, maximum, and minimum As values were 16.9, 58.0, and 0.1 µg L⁻¹, respectively with higher values observed in the Mercedes Aquifer in areas near the Uruguay River (Manganelli et al., 2007). These preliminary results indicate that Uruguay had wells drilled for drinking water that contained As levels above those recommended by the WHO.

Mañay et al. (2013) reported results from water samples taken from the Raigón aquifer system, the most exploited groundwater resource in Uruguay. This aquifer has a surface extent of approximately 1800 km² and is used by 10,000 inhabitants in San Jose Department. Agriculture and cattle breeding, the main economic activities in the area, rely on this aquifer for basic support. In the study, groundwater sampling was done on 37 wells drilled during an old irrigation development program (IPA, 1996). Outcropping sediments of the Raigón Formation and the overlying Libertad Formation were also sampled in the Kiyú region. Results indicated that in 80% of samples As levels exceeded the value of 10 µg L⁻¹, and 11% exceeded 20 µg L⁻¹, the current limit according to Uruguayan regulations. In this study, the median, maximum, and minimum As concentrations were 14.24, 24.19, and 1.44 µg L⁻¹, respectively, indicating that the population as well as industrial and agricultural activities were using water with As concentrations above the national and international maximum recommended limits.

In 2014, in a project for the MEVIR organization, As levels in water were analyzed from 100 wells, situated in the southern and coastal regions of the country. In total, 37 wells in both regions showed arsenic levels higher than 20 µg L⁻¹ (Montaña et al., 2016).

Currently, a number of new studies are taking place in the Universidad de la República, Uruguay. One of these projects started in 2017 and based on a medical-geology approach, focuses on evaluating the manner in which geological and environmental factors related to the presence of As in groundwater can influence the geographical distribution of associated health problems. This multidisciplinary approach offers tools to understand the health risks associated with human exposure to As in drinking water from underground sources. These tools are necessary to provide robust evidence on possible correlations. In

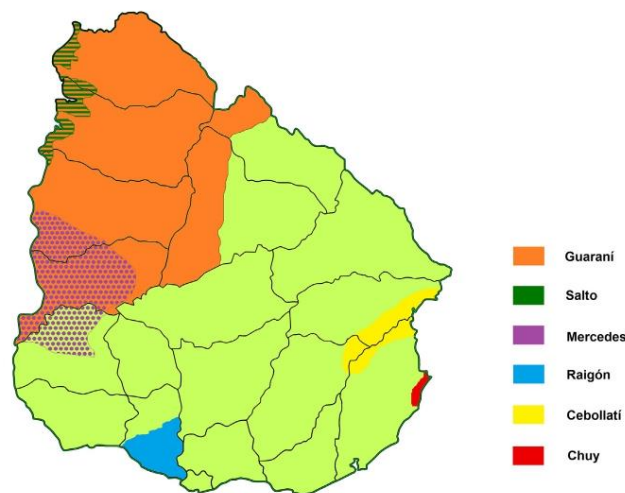


Fig. 1. Location of the main aquifers of Uruguay (adapted from de los Santos (2011)).

addition, as a first attempt, the study could present a possibility of overlapping local geochemical data and arsenic levels with disease registry data to potentially identify the likelihood of the population developing a particular type of disease (Centeno, 2007; Centeno et al., 2007).

However, in Uruguay, the only systematic and geographically distributed health data are those from the Atlas of the “Comisión Honoraria de Lucha Contra el Cáncer” (Honorary Commission to Fight Cancer, CHLCC). This atlas contains a systematic recording of all cancer cases in the entire country. These cases are statistically processed and classified by the type of cancer, affected organ, gender, and the geographical region of the country where it was reported (CHLCC, 2014). However, no data exists on the possible relationship of these cancer cases to environmental factors, such as chemical pollution and radiation.

In the afore-mentioned, ongoing study, a surveillance of available data regarding As levels in groundwater sources of Uruguay was carried out to investigate the relationship between the spatial distribution of As levels and arsenic associated cancer types. Epidemiological data considered in this study were obtained from the IV Atlas of Cancer Incidence in Uruguay, which covers the period 2007–2011. Data reported in this Atlas are based on the incidence of different types of cancer in men and women, as well as the territorial division of Uruguay (department) and various localities. This document allows the spatial visualization of cancer data and the overlap with available data on As levels in groundwater. Although a recent publication from the same institution (CHLCC, 2018) contains epidemiological cancer data reported from 2010 to 2014, it is not presented in the format of an atlas. In addition, about it does not contain information on individual locations (towns, cities, or territorial divisions), and therefore does not lend itself to the analysis of the spatial distribute of the data and to the potential overlapping with map data regarding As levels in groundwater.

One of the aims of the ongoing study is to investigate the relationship between arsenic levels in groundwater and the distribution of arsenic associated cancer cases (Cáceres and Mañay, 2018). In this way, more information can be attained concerning potential geological sources that contribute arsenic to the environment in particular regions of the country, and presenting other possible causes of cancer that need to be taken into consideration.

As a first step of this study, a database was completed to provide analytical data concerning As levels in groundwater used to supply drinking

water to the population in the southwestern area of the country. This region covers approximately one-third of the whole country and includes two main aquifers, the Mercedes and Raigón aquifer (Fig. 1), as well as the west basement. These data were obtained from OSE and MEVIR and include arsenic levels, location, and other parameters. According to data provided by OSE within the study area, approximately 113,500 people are supplied with groundwater in localities that reported As anomalies (OSE, 2016). Notably, the study region covers the area of greatest use of groundwater, not only for direct consumption, but also for agriculture-related activities. Reports regarding As levels from 210 wells were selected to temporarily match the cancer incidence and mortality data recorded in the last publication of the previously referred to Atlas (CHLCC, 2014) and were plotted and distributed on the map of Uruguay. The aquifers investigated in the study correspond to 61.5% of the total groundwater extracted in the country for human consumption as previously described (DINAMIGE, 2009).

Table 3
Summary of As levels in 210 wells plotted in Fig 2 and 3. Data obtained from OSE and MEVIR.

As Range ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Number of wells
0–10	101
10–20	53
20–50	52
>50	4
Total	210

Min. value As	<5 $\mu\text{g L}^{-1}$
Max. value As	113 $\mu\text{g L}^{-1}$

Table 3 summarizes the most relevant data regarding As levels in groundwater from wells. As can be seen, a number of wells contain As-levels beyond Uruguayan regulations limits ($<20 \mu\text{g L}^{-1}$).

In addition, reported cancer and incidence data concerning the lung, bladder, skin (melanoma and non-melanoma), liver, and kidney for both men and women are being taken into account in this particular study.

Currently, only preliminary results have been reported from this study with the incidence distribution of melanoma cancer in men and woman throughout each department's population in the southwestern region of the country (Cáceres and Mañay, 2018).

Figs. 2 and 3 present an initial attempt to overlap As levels in groundwater with the incidence distribution of melanoma cancer in men and woman, respectively.

The spatial distribution of melanoma incidence in men and women for the period 2007–2011 is shown, with a total of 606 and 498 cases being reported out of a total of 39,418 and 36,171 cases of incidence of all types of cancer in men and women respectively.

As indicated, it is possible to overlay high levels of As in drinking water with the incidence of cancer cases, thereby presenting a potential tool to estimate the contribution of As in wells to the incidence of cancer. However, it must be noted that the retrospective data on cancer was collected without taking environmental factors into account, such as chemical exposure.

This baseline study based on a Medical Geology approach could be a first step to improving public health As prevention, although many other environmental causes may be influencing the cancer incidence same region. In addition, several inconsistencies were detected in the

databases and it could be of help to use geoscience tools to identify these issues. To follow up the study, we suggest the use of geochemical characterization, geographic mapping, and risk assessment maps.

A second ongoing project, started in 2018, focuses on the determination of total As in water samples collected from various sources from a region of Uruguay that is devoted to rice production in Treinta y Tres department, located in the central-eastern part of the country (Falchi et al., 2019). This particular study was developed as in relation to concerns expressed by a rice company and originally posed to our research team.

The study area includes a rice plantation and a small village where rice field workers and their families live. Water samples were taken from different water sources, both superficial and groundwater. Superficial water samples were taken from a lagoon that feeds irrigation channels of the rice field and plantation channels as well as from the drilling of boreholes used by local communities. Groundwater samples were taken in boreholes that provide tap water to family homes and company offices. Bottled water available in workers' offices and tap water from some local family homes was also sampled. In addition, drinking water from the well of a school in close proximity to the rice field was also sampled.

As shown in Table 4, some water samples that were collected from wells show As concentrations close to the WHO's recommended limits for drinking water ($10 \mu\text{g L}^{-1}$), however, they comply with national regulations ($<20 \mu\text{g L}^{-1}$) classifying the water suitable for consumption and for the irrigation of rice plantations.

The results obtained in this study can be considered as an initial contribution to the body of knowledge regarding As levels in water in a defined rural region, and outside the current scope of OSE and MEVIR.

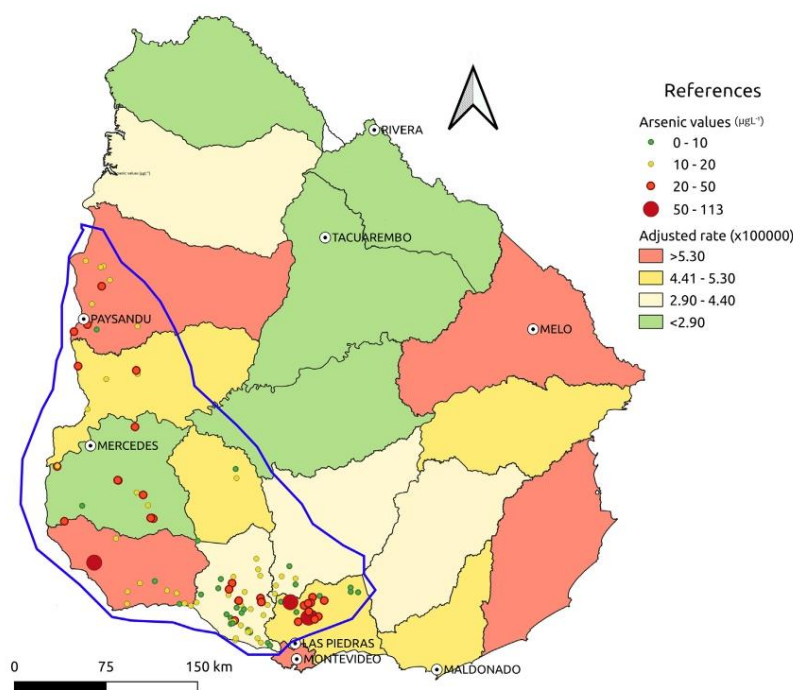


Fig. 2. As levels in wells plotted on the map (color dots) vs melanoma incidence in men (adjusted rates, background colors in the map).

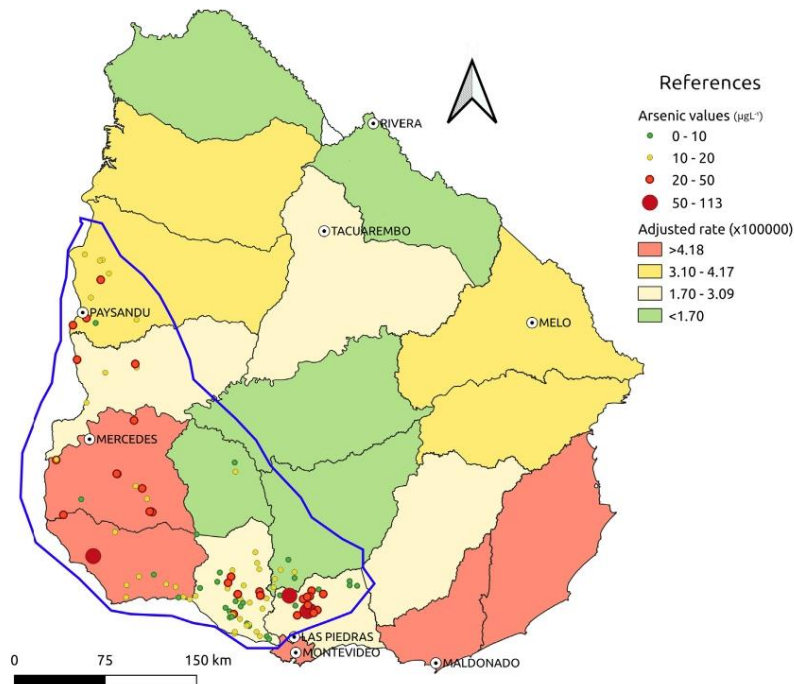


Fig. 3. As levels in wells plotted on the map (color dots) vs melanoma incidence in women (adjusted rates, background colors in the map).

Furthermore, the study represents an integral water arsenic levels study, as samples were not only taken from water used for domestic, labor, and industrial purposes but also from water used for the irrigation of rice plantations.

Further steps in the continuation of this study include the analysis of arsenic biomarkers in urine samples from the inhabitants of the rice field to evaluate health risks associated with the consumption of water containing low-doses of As.

3.2. As exposure risk assessment

3.2.1. Worker population

As previously mentioned in Section 1, there is a lack of systematic baseline research in Uruguay on As exposure in the population. However, according to current legislation, biological monitoring control should be performed for workers exposed to As. For this reason, As

speciation in water and urine offers an area of potential analytical development for the country.

A simple, economic, and rapid method for the determination of relevant toxic species of As in urine was developed by Bühl et al. in 2015 for the assessment of arsenic human exposure by HG-AAS prior derivatization with L-cysteine. Since then, this method is used in our laboratory for the periodic surveillance of Uruguayan arsenic workers by biomonitoring toxicologically relevant species of As in urine (As-U) (CEQUIMTOX, 2018).

In Uruguay, the main sources of occupational exposure are in timber plants that use CCA as a preservative with a composition of 28.5% Cr_2O_3 , 11.1% CuO , and 20.4% As_2O_5 . This wood preservative is used in a 60% aqueous solution and is registered as a pesticide with restricted use. The impregnation process is governed by national guidelines called the "Occupational Good Practices Guide on Wood Impregnation" (2007) that resulted from a multidisciplinary and interinstitutional approach including Uruguayan and international government organizations and

Table 4
Average As results of various water sources.

	Superficial water		Ground water (drinking water)					Bottled water
	Lagoon	Irrigation channels	School	Office	Family	Family	Family	
Media ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0.87	0.90	5.55	6.30	9.50	7.88	2.20	1.17
Minimum ($\mu\text{g L}^{-1}$)	<0.3	<0.3	<4.7	<5.4	<8.9	<6.3	<1.2	<0.6
Maximum ($\mu\text{g L}^{-1}$)	2.2	2.4	6.4	8.2	10.3	10.5	2.8	2.0

wood impregnation industry delegates with the objective to work according to good practices and protect workers' health. The biomonitoring of urine from workers exposed to CCA, chromium (Cr) and As is mandatory. However, to evaluate the health risks to workers, it is also necessary to identify other possible non-occupational inorganic exposure sources of arsenic such as groundwater and food.

To assess the problem of arsenic exposure, a retrospective evaluation of toxicologically relevant species levels in urine of workers exposed to CCA (As-U) was performed in 212 urine samples from 73 workers. Results confirmed that the efforts of Uruguayan authorities to promote good practices at work were successful, as all arsenic levels were below the reference value ($<35 \mu\text{g L}^{-1}$) (Bühl et al., 2018). In this study, 35 workers from one of the plants were interviewed to obtain individual data regarding, among others, work tasks, lifestyles, diet, and habits that may contribute to their As exposure. After statistical evaluation of their responses, 34% of the 35 surveyed workers showed a high exposure risk to As and 29% showed a moderate exposure risk, although urine levels were lower than reference levels. Results indicated that in spite of the use of personal protection elements, As-U levels are statistically significantly correlated to work risk factors. Surprisingly, a significant correlation between As-U and workers who consumed bottled water was also reported. As mentioned previously in Section 1, regulations regarding As levels in bottled water established the same limits as for drinking water ($20 \mu\text{g L}^{-1}$) but they fall under the food regulations (Decree 375/2011, 2011; UNIFF, 2010).

Currently, there is no information available on As levels in bottled water, or at least, these data have not yet been published. Results of research carried out on groundwater a few years ago, indicate that high levels of As were recorded in some of the most exploited aquifers of the country (DINAMIGE, 2009). As bottled water is not controlled by the same regulations as drinking water, it is imperative that As levels in different brands of bottled water are systematically monitored. This especially as urine levels from workers indicate that concentrations of As in bottled water could be higher than those from drinking water, as supplied by OSE, and could therefore, contribute to higher As-U levels (Mañay et al., 2013).

3.2.2. General population (adult and children)

As previously mentioned, chronic exposure to As at different levels can be associated with various cardiovascular pathologies, skin lesions, peripheral neuropathies, gastrointestinal symptoms, diabetes, renal complications, and some types of cancer (bladder, lungs, and skin, among others) depending on the doses (WHO, 2018; IARC, 2018).

As Uruguay did not have any official biomonitoring studies of the population in relation to (non-occupational) environmental exposure to arsenic, it was necessary to begin this type of research to assess the situation both in Uruguay and in relation to relevant regional and international frameworks (Mañay et al., 2014, 2016).

Iaquina et al. (2012) performed a pilot study to analyze the total As in urine samples from non-exposed populations to estimate basal levels and possible correlation with associated variables. In total, 36 urine samples were collected from voluntary participants (adults) according to a pre-designed protocol. Urine was analyzed by means of HG-AAS and results were statistically assessed and compared with data from a previous survey.

Results from this study showed average reference levels of $4.96 \mu\text{g L}^{-1}$, (range $2.67\text{--}11.21 \mu\text{g L}^{-1}$) and allowed for the study of the influence of several factors possibly affecting the concentration of As-U. Obtained levels were within the limits referred to as baseline in US populations (ATSDR, 2007). In addition, a negative significant correlation was found between age and U-As levels; as age increased, U-As levels decrease (Iaquina et al., 2012). This study can be considered the first preliminary background study focusing on As levels in urine from an unexposed adult population in Uruguay.

Kordas et al. (2016) studied As exposure in children and examined the extent and dietary predictors of exposure to As, as well as the effects of low-level exposure in 5–8-year-old children from Montevideo, Uruguay. In total, 357 children from different schools were enrolled in the study. Urine samples were collected from the children and a survey given to their parents regarding information about the children's diet. Level of As-U were measured using high-performance liquid chromatography with hydride generation and inductively coupled plasma mass spectrometry (HPLC-HG-ICP-MS), and the sum concentration (As-U) used for exposure assessment. Exposure to As was low (median As-U: $9.9 \mu\text{g L}^{-1}$) and drinking water was not a major contributor to exposure (water As: median $0.45 \mu\text{g L}^{-1}$). This can be explained by the fact that all children were from a region in Montevideo where drinking water is supplied only from surface water sources (Rio Santa Lucia). The study found that As exposure was low in this specific population of Uruguayan children, but that a higher consumption of rice was associated with higher As exposure, partly as DMA (dimethyl arsenic acid, one of the main metabolites of As). A higher body mass index, higher intake of meat, and higher proportion of vegetables also contributed to children's ability to methylate inorganic arsenic. However, more research is needed on the associated factors and biomarkers of arsenic in children living in areas where arsenic exposure may be higher through drinking water from groundwater sources.

3.3. Future research and activities

Several projects and future research activities are planned or proposed for the following years. Regarding official activities, CEREGAS (Regional Centre for Groundwater Management for Latin America and the Caribbean) has developed as a "tool of articulation" between governmental organizations, academia, and other regional countries. Its mission is to connect national and regional organizations with at the public or private sector for the sustainable management of aquifers and the protection of water resources under a comprehensive approach that considers environmental, economic, and social aspects. This includes international commitments entered upon by the country and the region in terms of sustainable development (CEREGAS, 2018). Within this framework, CEREGAS is now focusing its attention on As levels in aquifers and various meetings were held to elaborate on a draft action plan. This plan will apply to various institutions to secure funds for a multifold project. In addition, the project will also serve as an umbrella for ongoing research studies and to generate new knowledge regarding the problem of arsenic in groundwater in Uruguay.

Regarding academic endeavors, current research will focus on the nature and magnitude of the geological sources that contribute As to water and its distribution throughout the country. In addition, this will allow for the implementation of systematic tools for the assessment of health risks in order to collect scientific evidence for the prevention of harmful effects to low doses of arsenic in drinking water on population health.

Risk assessments should be performed in several identified Uruguayan populations by the application of standardized protocols of risk assessment developed by the WHO (2017) or by using similar tools. The academic proposal given to CEREGAS was based on the research results of Navoni et al. (2014). This paper describes a health risk assessment on As exposure through drinking water in an Argentinean population by applying spatial analytical techniques in addition to conventional approaches. The obtained results could then be used for defining priorities of risk management in particular areas decrease arsenic exposure. However, it will be necessary to begin harmonizing environmental and health data in Uruguay to continue with these types of projects.

Furthermore, the medical-geological approach offers a methodological framework for the development of an interdisciplinary scientific field to integrate geosciences and health sciences for the promotion of healthcare.

4. Conclusions

This paper gives an update on the context and current situation regarding environmental arsenic and health impact issues in Uruguay and reports on progress made in this area of concern.

Considering that As is a natural and ubiquitous element throughout the environment and that it is very difficult to protect populations against low-level exposure of As, it is very important that Uruguay, as other countries of the region, has this type of scientific information and background studies available for the promotion of preventive health actions.

The connection of academic research teams to stakeholders and policy makers, is highlighted as an efficient tool to continue advancing on these topics in Uruguay.

As previously described, overlapping Uruguayan cancer atlas data with As levels in drinking water from wells can be a potential tool to estimate the contribution of As to the incidence of cancer. Notably, it is important to formalize partnership agreements with governmental agencies, ministries, and other organizations, to develop a common framework, and to share available data in order to create high quality registers that are useful for research purposes.

Currently, the WHO guidelines and UNIT recommendations constitute the only basis that health authorities have in asking the state water company to reduce arsenic levels for drinking water. No official epidemiological or biomonitoring programs are planned for Uruguayan populations in the near future.

Considering this overview of the current situation in Uruguay, executive organizations dealing with the environment, drinking water, public health, and regulations need to join forces to advise on these issues and to achieve the best conditions for promoting health in the light of new research findings and recommendations on environmental arsenic levels and exposure risks. This contribution constitutes therefore, a first attempt to develop a feasible health risk assessment of low-dose arsenic exposure in this Latin-American country.

This paper shows that further research is needed on environmental and health arsenic issues in Uruguay, and describes a scientific approach that should be better explored in the country. The publication of results from ongoing studies will provide new and continuing research interests concerning arsenic issues in Uruguay.

Funding

Agencia Nacional de Investigación e Innovación [grant number ANII; FMV_3_2013_1_100439], Uruguay; PEDECIBA-Química, Uruguay; PEDECIBA-Geociencias, Uruguay and Comisión Sectorial de Investigación Científica [grant number CSIC, INI 2017- ID177], Uruguay.

References

- APHA, American Public Health Association, 2012. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 22 ed. .
- ATSDR, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2007. Toxicological Profile of Arsenic. Atlanta (GA). <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp2.pdf> (Accessed date: September 2018).
- Bühl, V., Álvarez, C., Kordas, K., Pistón, M., Mañay, N., 2015. Development of a simple method for the determination of toxicologically relevant species of arsenic in urine using HG-AAS. *J. Environ. Pollut. Human Health* 3 (2), 46–51. <http://pubs.sciepub.com/jephh/3/2/4/index.html> (Accessed date: September 2018).
- Bühl, V., Álvarez, C., Torre, M.H., Pistón, M., Mañay, N., 2018. Biomonitoring of arsenic in woodworkers exposed to CCA and evaluation of other non-occupational sources in Uruguay. *Int. J. Occup. Environ. Health* <https://doi.org/10.1080/10773525.2018.1425654>.
- Cáceres, M., Mañay, N., 2018. Relevamiento e identificación del arsénico en los principales acuíferos de Uruguay y su estudio mediante un abordaje geo-médico. IX Jornadas de Geociencias, Centro Universitario Regional del Este. Universidad de la República.
- Centeno, J., 2007. Health and natural hazards. *Chem. Technol.* 4, 41–48 <http://medicalgeology.org/pages/members/publications/Popular%20science/centeno-inter-view.pdf> Accessed date: January 2019.
- Centeno, J., Tseng, Ch., Van der Voet, G., Finkelman, R., 2007. Global impacts of geogenic arsenic: a medical geology research case. *Ambio* 36 (1), 78–81.

- CEQUIMTOX, Centro Especializado en Química Toxicológica, 2018. Toxicology Area, Faculty of Chemistry, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. <http://www.cequimtox.fq.edu.uy/> (Accessed date: September 2018).
- CEREGAS, Centro Regional para la Gestión de Aguas Subterráneas, 2018. <https://www.ceregas.org/> (Accessed date: September 2018).
- CHLCC, Comisión Honoraria de Lucha Contra el Cáncer, 2014. Uruguay Cancer Incidence Atlas. IV Atlas de Incidencia del cáncer en el Uruguay. Comisión Honoraria de Lucha Contra el Cáncer, Montevideo, Uruguay <https://www.google.com/uri?q=http://www.comisioncancer.org.uy/andocasociado.aspx%3F361,1046&sa=U&ved=0ahUKEwik4qJ0cXgAhUJlRkGHUQwClkQFggLMAM&client=internal-uds-cse&cx=002489579851455004661:rfsiocvhw&usq=ADvVaw2Rxv93QKnE7ayyv2Jrcr...> Accessed date: September 2018.
- CHLCC, Comisión Honoraria de Lucha Contra el Cáncer, 2018. Situación Epidemiológica del Uruguay en relación al Cáncer. Comisión Honoraria de Lucha Contra el Cáncer, Montevideo, Uruguay <http://www.comisioncancer.org.uy/andocasociado.aspx?513,1853> (Accessed date: September 2018).
- Collazo, M.P., Montaño, J., 2012. Manual de agua subterránea. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca, Montevideo, Uruguay http://aguabook.agua.gub.uy/files/upload/contenidos/10_2/Manual-de-agua-subterranea-Uruguay.pdf (Accessed date: September 2018).
- Decree 375/2011, 2011. Modification to the National Bromatological Regulation. <https://www.impo.com.uy/bases/decretos/375-2011> (Accessed date: September 2018).
- Decree 253/79, 1979. Normas para prevenir la contaminación ambiental mediante el control de aguas. https://www.dinamagub.uy/https://www.dinamagub.uy/r/aiu/index.php?option=com_docman&view=download&alias=32-decreto-25379&category_slug=nacional&Itemid=124, Accessed date: October 2018.
- DINAMIGE, Dirección Nacional de Minería y Geología, National Administration of Mining and Geology, 2009. Estimación de la extracción de agua subterránea. Principales acuíferos del Uruguay. http://www.miem.gub.uy/sites/default/files/estimacion_de_extraccion_anual_de_aguas_subterraneas_en_los_principales_acuiferos_del_uruguay.pdf, Accessed date: September 2018.
- Falchi, L., Pizzorno, P., Iaquinta, F., Cousillas, A., 2019. Survey of the Total Arsenic Concentration in the Water Coming From Several Sources in a Rice Area of Uruguay. *INNOTECH* <https://doi.org/10.26461/17.07>.
- Guía de Buenas Prácticas en Impregnación de Madera Tono 1: Seguridad y Salud [Occupational Good Practices Guide on Wood Impregnation Volume 1: Occupational Safety and Health], Cooperación Técnica MERCOSUR, Alemania http://catalogo.latu.org.uy/doc_num.php?explnum_id=2089, Accessed date: September 2018.
- Iaquinta, F., Álvarez, C., Pistón, M., Mañay, N., 2012. Evaluación de niveles de referencia de arsénico en orina de población adulta no expuesta ocupacionalmente. Estudio preliminar. *ALDEQ* 2011–2012. Nro XXVII, pp. 230–235. <http://riiquim.fq.edu.uy/items/show/500> (Accessed date: October 2018).
- IARC, 2018. Agents Classified by the IARC Monographs. August 28, 2018. International Agency for Research of Cancer <https://monographs.iarc.fr/agents-classified-by-the-iarc/> (Accessed date: October 2018).
- INE, 2011. Results of 2011 Uruguayan Population Census: Population, Growth and Structure by Sex and Age. Statistics National Institute <http://www.ine.gub.uy/documents/10181/35289/analisispaais.pdf>, Accessed date: October 2018.
- IPA, Plan Farming Institute, 1996. Programa de Manejo de Recursos Naturales y Desarrollo del Riego. Revista Plan Agropecuario, 70, pp. 10–11. https://www.planagropecuario.org.uy/publicaciones/revista/R70/R_70_10.pdf (Accessed date: October 2018).
- IPCS, 2001. International Programme on Chemical Safety (Environmental Health Criteria 224). Arsenic and Arsenic Compounds. World Health Organization Geneva, Switzerland <http://www.bvsde.ops-oms.org/bvsacd/who/ipcs.pdf> (Accessed date: October 2018).
- Kordas, K., Queirolo, E., Mañay, N., Peregallo, F., Ying Hsiao, P., Lu, Y., Vahter, M., 2016. Low-level arsenite exposure: nutritional and dietary predictors in first-grade Uruguayan children. *Environ. Res.* 147, 16–23. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.01.022>.
- de los Santos, M., 2011. Consideraciones para el estudio hidrogeológico en el área de influencia de un feed lot. Ministerio de Vivienda Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente, Uruguay http://ftp.mvotma.gub.uy/educacion-para-el-agua/item/download/8090_c18dd18a781ab1f7f9cc1fb5ea7f69d, Accessed date: November 2018.
- Mañay, N., 2010. Developing medical geology in Uruguay: a review. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 7, 1963–1969. <https://doi.org/10.3390/ijerph7051963>.
- Mañay, N., 2017. Estimating low-dose health risks from environmental arsenic in uruguayan populations. Conference Material. 7th International Conference on Medical Geology “MedGeo2017”. Moscow, Russia http://www.medgeo2017.org/userfiles/ufiles/conference_materials.pdf (Accessed date: September 2018).
- Mañay, N., Goso, C., Pistón, M., Fernández-Turiel, J., García Vallés, M., Rejas, M., Guerequizar, R., 2013. Groundwater arsenic content in Raigón aquifer system (San José, Uruguay). *Rev. Soc. Uruguaya Geol.* 18, 20–38 (<https://core.ac.uk/download/pdf/36141216.pdf>) Accessed date: September 2018).
- Mañay, N., Goso, C., Pistón, M., 2014. Arsenic environmental and health issues in Uruguay: a multidisciplinary approach. Proceedings of the 5th International Congress on Arsenic in the Environment. Buenos Aires, Argentina.
- Mañay, N., Bühl, V., Álvarez, C., Pistón, M., 2016. Challenges on the surveillance of arsenic exposed workers in Uruguay. Proceedings of the sixth international congress on arsenic in the environment (As2016), June 19–23, 2016, Stockholm, Sweden. In Book: Arsenic Research and Global Sustainability, pp. 414–415.
- Manganelli, A., Goso, C., Guerequizar, R., Fernández Turiel, J., García Vallés, M., Gimeno, D., Pérez, C., 2007. Groundwater arsenic distribution in South-Western Uruguay. *Environ. Geol.* 53, 827–834. <https://doi.org/10.1007/s00254-007-0695-9>.
- MEVIR, Honorary Commission Pro Eradication of Rural Insane Housing, 1995. Reglamento para el Proyecto, Construcción y Financiación de las Obras de Abastecimiento de Agua Potable y Saneamiento de los Conjuntos Habitacionales construidos por M.E.V.I.R. http://www.ose.com.uy/descargas/clientes/reglamentos/77_reglamento_proyecto_

- construccion_financiacion_de_obras_conjuntos_habitacionales_construidos_por_%20mevir.pdf (Accessed date: September 2018).
- MEVIR, Honorary Commission Pro Eradication of Rural Insafe Housing, 2014. Abastecimiento de agua para consumo humano en las UP. http://www.mevir.org.uy/images/Abastecimiento_de_agua_para_consumo_humano_en_las_UP_.pdf (Accessed date: September 2018).
- Montaño, J., Alvez, C., Montaño, M., Bonjour, M., 2016. La importancia de la presencia de As en el agua subterránea de Uruguay. VIII Congreso Uruguayo de Geología. I Simposio de Recursos Hídricos de la Cuenca del Plata. 17 al 19 de noviembre. Montevideo, Uruguay. http://www.sugeologia.org/documentos/Actas_VIII_CUG_2016.pdf (Accessed date: September 2018).
- MSP, Ministerio de Salud Pública, 2009. Ordenanza N°145/009. Vigilancia sanitaria de trabajadores expuestos a factores de riesgo laborales. Uruguay. <https://www.bse.com.uy/wps/wcm/connect/5410c616-d44e-4be0-a691-47d64d6852b1/ORD145.009.pdf?MOD=AJPERES> (Accessed date: September 2018).
- Navoni, J.A., De Pietri, D., Olmos, V., Gimenez, C., Bovi Mitre, G., de Titto, E., Villaaamil Lepori, E., 2014. Human health risk assessment with spatial analysis: study of a population chronically exposed to arsenic through drinking water from Argentina. *Sci. Total Environ.* 499, 166–174. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.08.058>.
- OSE, Obras Sanitarias del Estado, 2016. Impact on Water Supply System of the Change of the Maximum Allowed Value of 20 to 10 $\mu\text{g L}^{-1}$.
- OSE, Obras Sanitarias del Estado, 2018. Water. Supply. <http://www.ose.com.uy/agua> (Accessed date: September 2018).
- Reglamento Bromatológico Nacional, National Bromatological Regulations, 1994. Decreto N° 315/994. <https://www.impo.com.uy/bases/decretos-reglamento/315-1994> (Accessed date: August 2018).
- Schmidt, C.W., 2014. Low-dose arsenic. In search of a risk threshold. *Environ. Health Perspect.* 122 (5). <https://doi.org/10.1289/ehp.122-A130>.
- UNDP, 2018. Human development report. United Nations Development Programme, Uruguay <http://hdr.undp.org/en/countries/profiles/URY> (Accessed date: October 2018).
- UNIT, Instituto Uruguayo de Normas Técnicas, 2010. Uruguayan drinking water standard 833:2008. http://www.ose.com.uy/descargas/Cientes/Reglamentos/unit_833_2008_.pdf (Accessed date: August 2018).
- WHO, 2011. Arsenic in Drinking Water. Geneva, Switzerland. https://www.who.int/water_sanitation_health/water-quality/guidelines/chemicals/arsenic.pdf (Accessed date: September 2018).
- WHO, 2017. WHO Human Health Risk Assessment Toolkit: Chemical Hazards. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255613/9789243548074-spa.pdf;jsessionid=F6A57E7433F0AE7A4FB9CDD6B6877A4?sequence=1>.
- WHO, 2018. Arsenic. Key Facts. World Health Organization, Geneva, Switzerland <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/arsenic> (Accessed date: September 2018).
- World Bank, 2017. The World Bank in Uruguay. <http://www.worldbank.org/en/country/uruguay/overview> (Accessed date: October 2018).

Relevamiento de la concentración de arsénico total en agua proveniente de varias fuentes en una zona arrocerá del Uruguay

Survey of the total arsenic concentration in the water coming from several sources in a rice area of Uruguay

RECIBIDO: 17/10/2018 → APROBADO: 27/11/2018 ✉ lfalchi@fq.edu.uy

✉ FALCHI, LUCÍA (1); PIZZORNO, PAULINA (2); IAQUINTA, FIORELLA (1); COUSILLAS, ADRIANA (2)

(1) ÁREA QUÍMICA ANALÍTICA, DEPARTAMENTO ESTRELLA CAMPOS, FACULTAD DE QUÍMICA, UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA, MONTEVIDEO, URUGUAY.

(2) CEQUIMTOX. ÁREA TOXICOLOGÍA, DEPARTAMENTO ESTRELLA CAMPOS, FACULTAD DE QUÍMICA, UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA, MONTEVIDEO, URUGUAY.

RESUMEN

El Arsénico (As) es un elemento natural de la corteza terrestre de gran relevancia toxicológica debido a los efectos nocivos sobre la salud que provoca su exposición. Los elevados niveles de As en agua subterránea en Argentina y Chile son ampliamente estudiados y conocidos, no obstante, en Uruguay existen escasos estudios de investigación sobre el tema. En este trabajo se realizó la determinación de As total en muestras de agua mediante espectrometría de absorción atómica con generación de hidruros (HG-AAS). La metodología se basó en el método normalizado de la American Public Health Association (APHA 3114 B) y se evaluó la linealidad, la precisión y la veracidad como parámetros de desempeño para su implementación. Fueron analizadas 49 muestras de agua superficial y subterránea provenientes de una zona del país que se caracteriza por el cultivo de arroz. Los resultados obtenidos no superan el nivel de As establecido por la normativa uruguaya ($20 \mu\text{g L}^{-1}$) y se observan valores más elevados en aguas subterráneas que en las superficiales. Este trabajo es un primer aporte para conocer los niveles de As total en agua que se utiliza para uso doméstico y en los cultivos de arroz.

PALABRAS CLAVE: As, agua subterránea, arroz, HG-AAS.

ABSTRACT

Arsenic (As) is a natural element of the earth's crust. Due to the health effects caused by its exposure, it has a great relevance in toxicological studies. The high

levels of As in groundwater in Argentina and Chile are widely studied and known. However, in Uruguay there are few research studies based on the levels of As in water. In this work the determination of the total As in water samples was carried out, using atomic absorption spectrometry with hydride generation (HG-AAS). The methodology was based on the standardized method of the American Public Health Association APHA 3114 B. We evaluated linearity, accuracy and veracity as performance parameters for its implementation. A total of 49 samples of surface and underground water were analyzed. The results did not exceed the standards level established in Uruguayan regulations ($20 \mu\text{g L}^{-1}$). Also, higher values were observed in groundwater rather than in surface water. This research is an initial work to know the As levels in water used for domestic purposes and rice plantations in Uruguay.

KEYWORDS: As, underground water, rice, HG-AAS.

INTRODUCCIÓN

El Arsénico (As) es un metaloide presente en la naturaleza, ampliamente distribuido en la corteza terrestre: en agua, aire y suelo. Es capaz de formar compuestos orgánicos e inorgánicos y presentarse en distintos estados de oxidación ($-III$, 0 , $+III$, $+V$). Las especies químicas más relevantes del As son: arseniato $[\text{As(V)}]$, arsenito $[\text{As(III)}]$, formas metiladas de As V y As III, arsenobetaina, arsenocolina, arsenoazúcares y arsenolípidos. Las especies inorgánicas de As son las de mayor toxicidad frente a las orgánicas (WHO, 2001; WHO, 2011; Litter, et al., 2009). La Agencia para las sustancias tóxicas y el registro de enfermedades (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, ATSDR) ubica al As en el primer lugar de la lista de prioridad de sustancias toxicológicamente relevantes (ATSDR, 2017). La Organización Mundial de la Salud (OMS) lo considera dentro de las diez sustancias más preocupantes para la salud pública (WHO, 2018) y el Centro Internacional de Investigaciones sobre Cáncer (International Agency for Research on Cancer, IARC) ha clasificado al As como cancerígeno para seres humanos (IARC, 2014).

Las principales vías de exposición son el aire, el agua, el suelo y los alimentos. A excepción de la contaminación antropogénica, los mayores niveles de As se han encontrado en los recursos hídricos subterráneos, debido a los procesos de interacción natural de agua-roca y a la elevada relación de sólidos en solución que se encuentra en los acuíferos (Mañay, 2013).

El principal problema para la salud pública radica en el uso de agua contaminada, para beber, preparar alimentos y regar cultivos agropecuarios. Los síntomas de intoxicación aguda involucran principalmente entumecimiento de los pies y las manos, calambres musculares y ocasionalmente la muerte. La exposición crónica a bajos niveles de As inorgánico debido a la ingesta de agua contaminada incluye: cambio de pigmentación de la piel, lesiones cutáneas, hiperqueratosis, además de cáncer de piel, vejiga, pulmón y riñones (WHO, 2018; Mañay, 2013; Spratlen, 2017).

La presencia de altos niveles de As en el agua es un tema prioritario de preocupación ambiental, ya que limita el uso del recurso de agua potable e impide el crecimiento socioeconómico, la sostenibilidad del uso racional de los suelos y el desarrollo sostenible de la agricultura (Litter, et al., 2009). Esta preocupación, junto con los efectos tóxicos en la salud humana y animal y las consecuentes repercusiones patológicas asociadas con su exposición, ha llevado a profundizar su estudio y desarrollar diversas metodologías analíticas capaces de estudiar al As en sus diferentes formas y concentraciones, incluso a niveles de traza. Existen diversas metodologías para la determinación de As; la espectrometría de absorción atómica por generación de hidruros (HG-AAS) y la espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) son las más utilizadas hoy en día, ya que son compatibles para la detección y cuantificación de As de acuerdo con los límites impuestos por la legislación para su contenido en agua potable. En la mayoría de los países este límite se ha fijado recientemente en $10 \mu\text{g L}^{-1}$ como valor objetivo de acuerdo a las recomendaciones de la OMS (WHO, 2018; Litter, et al., 2009).

Debido a la introducción de estos nuevos límites internacionales, la determinación de As en agua comenzó a tener relevancia geoquímica-ambiental en Uruguay. En noviembre de 2011 se aprobó en el país el Decreto N° 375/011 (Uruguay, 2011) que establece que la norma UNIT 833 (Instituto Uruguayo de Normas Técnicas, 2008) define los parámetros requeridos para el agua. Allí se determina que los niveles de As total deberán ser menores a $20 \mu\text{g L}^{-1}$, con el objetivo de alcanzar las recomendaciones de la OMS (Instituto Uruguayo de Normas Técnicas, 2008).

Dada la relevancia en la salud pública y el impacto ambiental que representa la presencia de As en agua en altas concentraciones, así como las escasas referencias bibliográficas sobre la situación en Uruguay, este estudio surge con el fin de realizar un relevamiento de sus niveles en una zona del país dedicada al cultivo de arroz altamente demandante de agua.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo

La región de muestreo se ubica al noreste de Uruguay, en el departamento de Treinta y Tres, y es reconocida por el cultivo de arroz. Se tomaron muestras dentro del predio de una empresa arrocera interesada en conocer los niveles de As del lugar. Los puntos de muestreo fueron aguas superficiales de la laguna Merín, de donde surgen los canales que abastecen a las plantaciones, y varios puntos en los canales. Además, se tomaron muestras de aguas subterráneas de los pozos que la suministran al poblado vecino y a las oficinas e instalaciones de la empresa arrocera. Se recolectaron muestras de agua en las localidades de Vergara y Cebollatí y en el río Cebollatí. Estas muestras de zonas aledañas se consideran control, ya que son localidades cercanas a la zona de interés y el agua proviene de la misma cuenca principal, la Laguna Merín o acuífero Chuy. Se realizó el muestreo de

forma no probabilística por conveniencia, abarcando todas las áreas a las que se tuvo acceso dentro de la empresa arroceras y en las ciudades aledañas. En total se recolectaron 49 muestras.

Tanto la toma como la conservación de las muestras se realizó según recomendaciones de APHA (American Public Health Association, American Water Works Association y Water Environment Federation, 2012). Para la recolección de agua subterránea se limpió la tubería de salida dejándola correr unos 3 minutos y se hizo la toma de muestra. Las muestras de agua superficial fueron extraídas de preferencia en la zona central y de una zona donde fluía el agua pero sin turbulencia. Se evitó tomar agua de las márgenes del río, ya que allí no está perfectamente mezclada y puede haber sufrido efectos de evaporación o de contaminación. Las muestras fueron colectadas en frascos de polipropileno de 500 mL con la adición de ácido nítrico al 5 %v/v para su conservación, transporte y posterior análisis en el laboratorio.

Análisis

La determinación de As total en las muestras de agua se realizó en el CEQUIMTOX (Centro Especializado en Química Toxicológica - Facultad de Química) mediante espectrometría de absorción atómica por generación de hidruros (HG-AAS), basada en el método normalizado de APHA 3114 B (American Public Health Association, American Water Works Association and Water Environment Federation, 2012). Se analizó cada muestra por duplicado, con un tratamiento inicial de digestión abierta utilizando ácido clorhídrico concentrado y posterior agregado del agente reductor yoduro de potasio 20 % m/v.

Se verificó la metodología evaluando los siguientes parámetros de desempeño: linealidad, precisión, veracidad (muestras fortificadas a dos niveles y material de referencia certificado: LATU MRC. INO. 101), límites de detección y cuantificación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La metodología para la determinación de As se adaptó basándose en las recomendaciones de la APHA con el objetivo de trabajar dentro de los lineamientos de la química verde, con el uso de la menor cantidad de reactivos, con la menor concentración posible y generando la menor cantidad de residuos, en el menor tiempo de análisis. Se realizó una digestión en condiciones fuertemente ácidas para eliminar materia orgánica presente. Luego de la digestión las muestras se redujeron con el agregado de yoduro de potasio para obtener la forma adecuada de As para la generación de hidruros. Se estudiaron parámetros de desempeño para evaluar las modificaciones realizadas y los resultados obtenidos se incluyen en la Tabla 1.

TABLA 1. Parámetros de desempeño.

Parámetros de desempeño	Resultado
Linealidad (0-12 µg L ⁻¹)	R ² > 0.995
Precisión (n = 10, RSD)	<10%
Veracidad (n = 10)	75-125%
LOD (3s/b, n = 10)	0,5 µg L ⁻¹
LOQ (10s/b, n = 10)	1,5 µg L ⁻¹

Los resultados de As total obtenidos por el análisis de las muestras de agua recogidas en el predio de la empresa se agrupan en la Tabla 2. Se clasifican según su origen, superficial o subterránea, y se indica la cantidad de muestras por punto de muestreo analizadas. Se presentan en ambos casos las concentraciones máximas y mínimas encontradas para cada grupo de muestras. A su vez, se indican en la Tabla 3 los resultados de As obtenidos en las muestras provenientes de la zona aledaña a la empresa arrocera. Allí se especifican las ciudades muestreadas, la cantidad de muestras obtenidas en cada una y los valores mínimos y máximos en cada grupo de muestras.

TABLA 2. Resultados de As en aguas provenientes del predio de la empresa arrocera.

Concentración promedio de As (µg L ⁻¹)							
Agua superficial				Agua subterránea			
Lagunas (n = 6)	Canales (n = 9)	Chacra (n = 7)	Pozo ESCUELA (n = 2)	POZO 1 (n = 3)	POZO 2 (n = 9)	POZO 3 (n = 4)	POZO 4 (n = 2)
<1,5	<1,5	<1,5	5,6	9,5	6,3	7,9	2,2
Mín/Máx <0,5/2,2	Mín/Máx <0,5/2,4	Mín/Máx <0,5/2,4	Mín/Máx 4,7/6,4	Mín/Máx 8,9/10,3	Mín/Máx 5,4/8,2	Mín/Máx 6,3/10,5	Mín/Máx 1,2/2,8

TABLA 3. Resultados de As en las zonas aledañas.

Concentración promedio de As (µg L ⁻¹) en zonas aledañas			
Vergara	Cebollatí		Río Cebollatí
Ciudad (n = 1) < 0,5	Ciudad: punto 1 (n = 2)	Ciudad: punto 2 (n = 3)	(n = 1)
	4,9	10,7	6,5
--Mín/Máx 1,8/7,1	Mín/Máx 9,3/12,2		Mín/Máx -

La norma nacional UNIT 833 (Instituto Uruguayo de Normas Técnicas, 2008) determina el valor máximo permitido de As en $20 \mu\text{g L}^{-1}$ para agua potable. Como se observa en los resultados tanto de las aguas superficiales como de las subterráneas, las concentraciones promedio de As obtenidas cumplen con la especificación. Esto es de significativa relevancia, ya que las aguas subterráneas de pozo son las que abastecen a la población de la zona y no se observa anomalía en la concentración de As que consumen.

Al comparar los resultados entre las aguas superficiales y subterráneas se observa diferencia entre las concentraciones encontradas en ellas. Las muestras provenientes de aguas superficiales en su mayoría poseen concentraciones bajas, menores a $1,5 \mu\text{g L}^{-1}$, mientras que las subterráneas presentan casi en su totalidad valores de concentración de As mayores a $5 \mu\text{g L}^{-1}$. Los resultados se representan de forma gráfica en la Figura 1, donde se dividió el rango de concentraciones de As obtenidas según las normativas legales y se evalúa si el mayor aporte de As proviene de aguas superficiales o subterráneas. Se observa claramente que para concentraciones desde el nivel de cuantificación hasta $20 \mu\text{g L}^{-1}$ el aporte que prima siempre es de origen subterráneo. Esta observación se puede deber a procesos de origen geogénico, a la composición y condiciones de suelo subterráneo. En general, el pH del suelo es levemente alcalino y junto con las condiciones reductoras se favorece la desorción del As desde fases adsorbidas del suelo, vertiéndose en el agua presente (Smedley y Kinniburgh, 2002).

La concentración de As encontrada tanto para aguas superficiales y subterráneas en el predio de la empresa arrocera, en el pueblo vecino y las zonas aledañas es en general similar, por lo que se podría atribuir la presencia de As en la zona a su proveniencia natural desde los suelos de la zona.

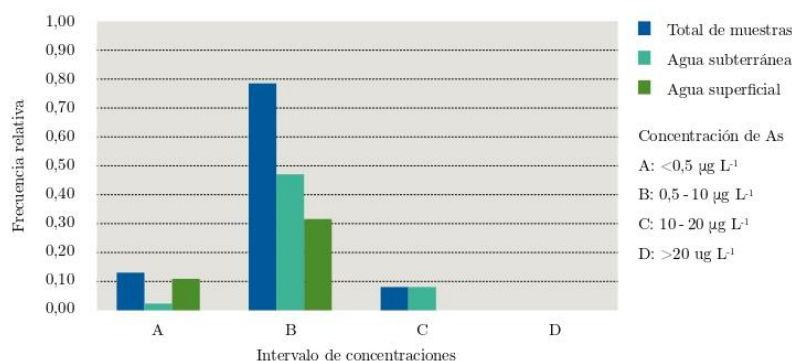


Figura 1. Frecuencia relativa de aguas superficiales y subterráneas frente al total de muestras dependiendo de la concentración de As total.

Según la OMS, el valor máximo permitido para As total es $10 \mu\text{g L}^{-1}$. Este valor es el objetivo planteado según la norma nacional a implementarse como límite en un futuro cercano. Las concentraciones de As de algunas muestras analizadas en este trabajo, provenientes de pozos subterráneos que abastecen a la población, sobrepasan

ese valor. En Uruguay más de un tercio de la población utiliza agua subterránea para consumo doméstico (OSE, s.d.) y es un recurso ampliamente utilizado en el sector agroproductivo, por lo que el estudio de la calidad de agua en cuanto a su contenido de As es de gran relevancia.

Existen escasos estudios de investigación hoy en día en Uruguay. Son conocidos los relevamientos de Manganelli (2006) o Mañay (2013), por ejemplo, pero se encuentran en general relacionados a zonas del sur o suroeste de Uruguay. Por ello, este trabajo es un aporte inicial para conocer los niveles de As en agua de consumo humano en una zona puntual del noroeste del país no estudiada anteriormente, dando paso a que se inicien nuevos proyectos de investigación para su estudio en todo Uruguay.

Dada la conocida toxicidad de la especie inorgánica de As III y su estrecha relación con patologías en seres humanos, se continuará este trabajo con el desarrollo de la metodología para la determinación de las especies de As en agua. Luego se estudiará el grado de toxicidad y se realizará una evaluación de riesgo poblacional con el fin de aportar información a la salud pública.

CONCLUSIONES

Este estudio es un primer aporte al conocimiento de los niveles de As total en agua que se utiliza para consumo poblacional y de riego en plantaciones de arroz en una zona puntual del noreste de Uruguay. Si bien las concentraciones de As total se encontraron dentro de especificaciones de normativas nacionales, se encontraron concentraciones de As que sobrepasan los niveles objetivos del país para aguas potables de consumo humano.

REFERENCIAS

- American Public Health Association, American Water Works Association y Water Environment Federation, 2012. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 22va ed. Washington: APHA. Standard Method 3114 CL, Approved 2009- Editorial Rev. 2011.
- ATSDR, 2017. *CERCLA Priority list of hazardous substances* [En línea]. Atlanta: ATSDR. [Consulta: 12 de octubre, 2018]. Disponible en: <https://www.atsdr.cdc.gov/spl/previous/07list.html>
- IARC, 2014. *World cancer report*. Lyon: IARC.
- Instituto Uruguayo de Normas Técnicas, 2008. UNIT 833: *Agua potable-Requisitos*. Montevideo: UNIT.
- Litter, M., Armienta, M.A. y Farias, S.S., eds., 2009. *IBEROARSEN. Metodologías analíticas para determinación y especiación de As en aguas y suelos*. Buenos Aires: CYTED.
- Manganelli, A., Goso, C., Guerequíz, R., Fernández-Turiel, J.L., García Vallès, M. y Gimeno, D., 2006. Estudio preliminar del contenido de arsénico de las aguas subterráneas del suroeste de Uruguay. En: *Geogaceta*, 41, pp.115-118.

- Mañay, N., Goso, C., Pistón, M., Fernández-Turiel, J.L., García-Vallés, M., Rejas, M. y Guerequiz, R., 2013. Groundwater arsenic content in Raigón aquifer system (San José, Uruguay). En: *Revista SUG*, 38, pp.20-38.
- OSE, [s.d.]. *Agua subterránea* [En línea]. Montevideo: OSE. [Consulta: 12 de octubre de 2018]. Disponible en: <http://www.ose.com.uy/agua/agua-subterranea>
- Smedley, P. y Kinniburgh, D., 2002. A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. En: *Applied Geochemistry*, 17(5), pp.517-568.
- Spratlen M.J., Gamble M.V., Grau-Pérez, M., Kuo, C.C., Best, L.G., Yracheta, J., Francesconi, K., Goessler, W., Mossavar-Rahmani, Y., Hall, M., Umans, J.G., Fretts, A., Navas-Acien, A. Arsenic metabolism and one-carbon metabolism at low-moderate arsenic exposure: Evidence from the strong heart study. En: *Food and Chemical Toxicology Journal*, 105, pp.387-397.
- Uruguay. Decreto 129/009, de 03 de noviembre de 2011. *Diario Oficial*, 14 de setiembre de 2011, No. 28.348, p.11.
- WHO, 2018. *Arsenic* [En línea]. Geneva: WHO. [Consulta: 12 de octubre de 2018]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs372/en/>
- WHO, 2011. *Guidelines for drinking-water quality* [En línea]. Geneva: WHO. [Consulta: 12 de octubre de 2018]. Disponible en: http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/2011/9789241548151_toc.pdf
- WHO, 2001. *Arsenic and arsenic compounds* [En línea]. Geneva: WHO. (Environmental Health Criteria, 224). [Consulta: 12 de octubre de 2018]. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42366/WHO_EHC_224.pdf;jsessionid=1FC9D7D022CC57D77AAD352F36A11B55?sequence=1

Apéndice 10. Presentaciones en Congresos

- II Congreso Virtual Iberoamericano de Salud Ambiental y I Congreso de la Red de Toxicología de Latinoamérica y el Caribe, 23 a 27 de setiembre de 2024.
 - Evaluación de la exposición al arsénico en agua subterránea de una comunidad rural de Uruguay. Paulina Pizzorno, Mariano Cáceres, Valery Bühl, Nelly Mañay. Presentación oral.
- 36th Annual Conference of the International Society for Environmental Epidemiology (ISEE 2024), Santiago, Chile, 25 al 28 de agosto de 2024.
 - Evaluating Human Health Risks Associated with Groundwater Chemical Exposure in a Rural Community of San Antonio, Uruguay. Paulina Pizzorno, Mariano Cáceres, Valery Bühl, Nelly Mañay. Poster.
 - Arsenic Exposure Assessment: Method Development and Application in Rural Populations. P. Pizzorno, L. Falchi, M. Cáceres, M. Pistón, N. Mañay, V. Bühl. Presentación oral.
- Congreso Latinoamericano de Investigación y Educación Superior Interdisciplinaria, Montevideo, Uruguay, 23 al 26 de julio de 2024
 - Arsénico en agua subterránea y riesgos a la salud asociados. Paula Collazo, Elena Alvareda, Valery Bühl, Gianella Facchin, Nelly Mañay, Karina Pamoukaghlian, Paulina Pizzorno. Presentación Oral
 - Proyecto mitigación de arsénico en agua subterránea caso de estudio: Kiyú, San José. Uruguay. Paula Collazo, Gianella Facchin, Karina Pamoukaghlian, Valery Bühl, Paulina Pizzorno, Elena Alvareda. Poster.

- URUTIAFT 2023, Montevideo, Uruguay, 13 a 16 de noviembre de 2023
 - Espectrometría de emisión óptica de plasma inducida por microondas utilizada para el biomonitorio de la exposición al arsénico. Pizzorno, Paulina; Falchi, Lucia P.; Pistón, Mariela M.; Mañay, Nelly.; Bühl, Valery. Presentación oral
 - Evaluación de especies inorgánicas tóxicas de arsénico en aguas subterráneas uruguayas. Bühl, Valery; Pizzorno, Paulina; Cáceres, Mariano, Mañay, Nelly. Presentación oral
- III Latin American Congress of Environmental, Experimental and Nanomaterials Toxicology (ToxiLatin 2023), Belo Horizonte, Brasil, del 26 al 29 de septiembre de 2023.
 - *Arsenic Exposure Assessment Through Groundwater in a Rural Community of Uruguay* Paulina Pizzorno, Mariano Cáceres, Valery Bühl, Nelly Mañay. Poster
- SETAC Latin America 15th Biennial Meeting, Montevideo, Uruguay, 17 al 20 de setiembre 2023
 - Assessment of Arsenic Levels in Groundwater and Its Risk of Environmental Exposure in the Rural Community of San Antonio-Uruguay in 2021 and 2023 Paulina Pizzorno, Mariano Cáceres, Valery Bühl, Nelly Mañay. Presentación oral
 - Arsenic and Other Inorganic Pollutant Levels in Uruguayan Groundwater Intended for Human Consumption. Paulina Pizzorno, Mariano Cáceres, Lucía Falchi, Fiorella Iaquina, Naomi Baladan, Nelly Mañay, Valery Bühl. Presentación oral
 - Improving Lead and Arsenic Environment Health Risks Exposure Assessment and Management in Uruguay, Through New Trends of a

Collaborative Multidisciplinary Approach. Nelly Mañay, Paulina Pizzorno.
Presentación oral

- Arsenic High Levels in Raigon Aquifer at Kiyu, Libertad and Santa Regina Localities. Karina Pamoukaghlian, Paula Collazo, Valery Buhl, Paulina Pizzorno, Elena Alvareda, Nelly Mañay. Poster
- 10th. International Conference of Medical Geology. Monterrey, México. 6 al 9 de agosto de 2023.
 - Risk assessment exploratory study associated with the presence of arsenic in groundwater in a rural area of the municipality of San Antonio, Uruguay. Pizzorno, Paulina; Bühl, Valery; Cáceres, Mariano, Mañay, Nelly. Presentación oral
 - Fluoride distribution from Uruguay's aquifers as drinking water and their possible exposition risk to human health. Alvareda E., Cáceres M., Pizzorno P., Ramos J., Bessone L., Bühl V., Mañay N. and Gamazo P. Presentación oral
 - Arsenic speciation in groundwater of Uruguay and implications on public health Bühl, Valery; Pizzorno, Paulina; Cáceres, Mariano, Mañay, Nelly. Presentación oral
- Octavo Encuentro Nacional de Química ENAQUI 8, Montevideo, Uruguay, 18 al 21 de octubre de 2023
 - Características químicas del agua subterránea de consumo en zona rurales, la presencia de arsénico y su riesgo a la salud. Paulina Pizzorno, Mariano Cáceres, Angela Torres, Lucia Falchi, Fiorella Iaquinta, Nelly Mañay, Valery Bühl . Presentación oral.

- Aportes a la calidad del agua subterránea. Evaluación de niveles de aniones en aguas de consumo humano. Lucía Falchi, Fiorella Iaquina, Paulina Pizzorno, Mariano Cáceres, Valery Bühl. *E-poster*
- *7° Congreso Uruguayo de Química Analítica (7°CUQA)*, Montevideo, Uruguay, 26 al 28 de octubre de 2022
 - Estrategias analíticas para la determinación de especies de arsénico inorgánico más tóxicas en agua: caracterización del agua subterránea de consumo en zonas rurales del sur uruguayo. Pizzorno, Paulina; Falchi, Lucia; Pistón, Mariela; Mañay, Nelly; Bühl, Valery. Presentación oral.
- *II Simposio de Arsénico en agua subterránea del Uruguay*, Montevideo, Uruguay, 8 de noviembre de 2022
 - Capacidades analíticas y su aplicación en estudios de evaluación de riesgo a la salud por exposición al arsénico Valery Bühl, Paulina Pizzorno. Presentación oral
 - Caracterización geoquímica de muestras de roca de perforación y correlación con la concentración de arsénico en agua subterránea, Kiyu, San José. Uruguay Paula Collazo, Karina Pamoukaghlian, Gianella Facchin; Micaela González; Paulina Haller; Paulina Pizzorno; , Elena Alvareda; Valery Buhl; Presentación oral
 - Estudio de los niveles de arsénico en aguas subterráneas utilizadas para el consumo humano; Aportes de la Toxicología Ambiental con una mirada de Geología Médica. Paulina Pizzorno, Valery Bühl, Virginia Strambini, Paula Collazo, Nelly Mañay. Poster.
 - Proyecto ASURU: arsénico en agua subterránea del Uruguay y evaluación de riesgos a la salud asociados. Paula Collazo, Karina Pamoukaghlián, Nelly Mañay, Valery Buhl, Paulina Pizzorno, Elena Alvareda César Goso. Poster

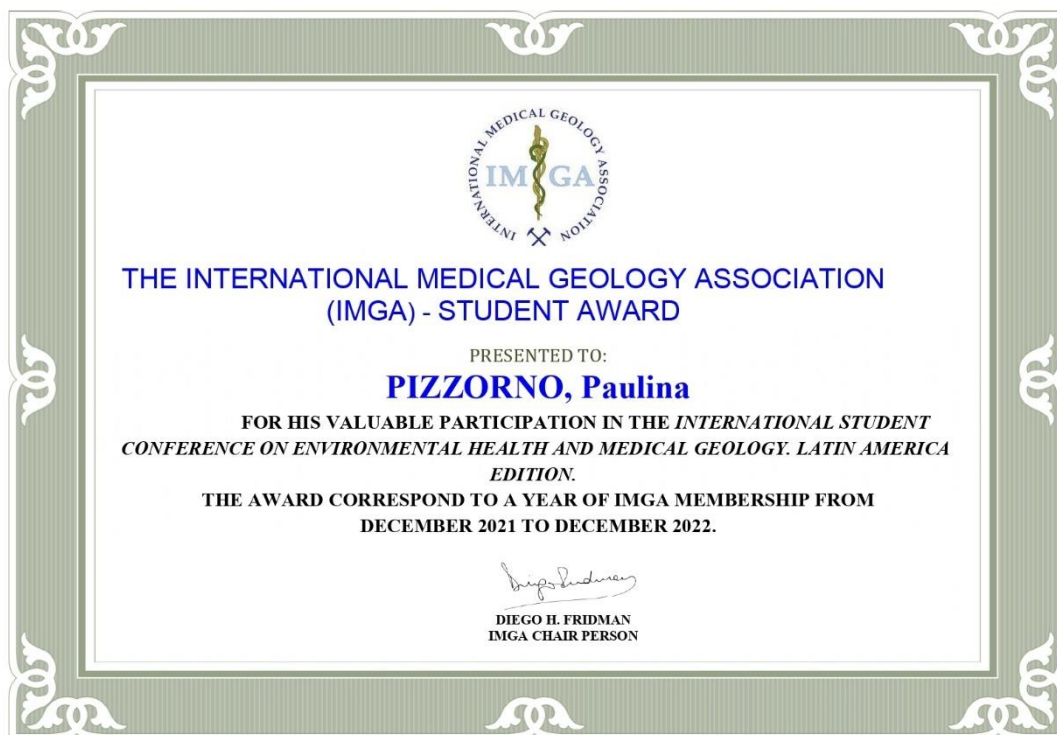
- Niveles de arsénico elevados en el Sistema Acuífero Raigón, en las zonas de Kiyú, Libertad y Santa Regina. Karina Pamoukaghlián, Paula Collazo, Nelly Mañay, Valery Buhl, Paulina Pizzorno, Elena Alvareda. Poster
- Estudio sobre el arsénico y sus especies en perforaciones para consumo humano al SE de Kiyú, San José, Uruguay Rebeca Panzl Di Leone, Elena Alvareda, Karina Pamoukaglian, Valery Bühl, Paulina Pizzorno. Poster
- Arsénico en Agua Subterránea, en Acuífero Fracturado de Punta Espinillo, Montevideo, Uruguay Romy Gonzalez, Paula Collazo, Valery Bühl, Paulina Pizzorno. Poster
- Congreso Argentino de Química Analítica. Argentina 2021
 - Desarrollo de un sistema acoplado (HPLC-HG-MIP OES) para la determinación de especies inorgánicas de arsénico Lucía Falchi, Paulina Pizzorno, Valery Bühl, Nelly Mañay y Mariela Pistón. Presentación oral
 - Desarrollo de una metodología rápida y económica para la especiación de arsénico en aguas mediante extracción en fase sólida Paulina Pizzorno, Lucía Falchi, Nelly Mañay y Valery Bühl. Presentación oral
- As2021_28th International Congress on Arsenic in the Environment, Wageningen, Netherlands, Junio 2021
 - “Private wells in Uruguay: evaluating groundwater arsenic levels and finding new areas for population’s health risks assessment”. Valery Bühl, P. Pizzorno, I. Machado, E. Alvareda & N. Mañay. Congreso realizado en forma virtual del 7 al 9 de junio de 2021. Presentación oral.
- XXXVII Jornadas Interdisciplinarias de Toxicología –"La Toxicología transitando los tiempos de pandemia" Buenos Aires, Argentina del 16 al 18 de septiembre de 2020

- Determinación del biomarcador de exposición al arsénico inorgánico. Validación de un método mediante espectrometría de emisión atómica con plasma inducido por microondas acoplado a la generación de hidruros (HG-MIP OES). Paulina Pizzorno, Lucia Falchi, Mariela Pistón, Valery Bühl, Nelly Mañay. Poster
- 6 Encuentro Nacional de Química (6 ENAQUI), Montevideo, Uruguay Octubre 2019.
 - Comparación del desempeño de dos técnicas de espectrometría atómica para la determinación de arsénico en aguas subterráneas. (2019) Lucía Falchi, Paulina Pizzorno, Valery Bühl, Nelly Mañay, Mariela Pistón. e-poster
 - Aplicación de espectrometría de emisión atómica con plasma inducido por microondas acoplado a la generación de hidruros (HG-MIP OES) como técnica alternativa para evaluación de niveles de arsénico en orina como biomarcador de exposición de la población. (2019) Paulina Pizzorno, Lucia Falchi, Mariela Pistón, Valery Bühl, Nelly Mañay. e-poster
- 15 Rio Symposium on Atomic Spectrometry, 2019.
 - Arsenic Determination In Urine Using HG-MIP OES: A Toxicological Application (2019) Valery Bühl, Paulina Pizzorno, Lucia Falchi, Florencia Cora Jofré, Marianela Savio, Nelly Mañay, Mariela Pistón. Poster con presentación oral.
- MEDGEO, Guiyang, China. 12 a 15 de Agosto 2019.
 - “Medical Geology approach for Arsenic studies in Uruguay: advantages and difficulties” N. Mañay, V. Bühl, M. Cáceres. The 8th Internacional Medical Geology Conference, Presentación oral.
- 5° Congreso Uruguayo de Química Analítica (5°CUQA), Montevideo Uruguay Octubre 2018.

- Relevamiento de arsénico inorgánico en agua proveniente de varias fuentes de una zona arroceras del Uruguay (2018). Falchi, Lucía; Pizzorno, Paulina; Iaquina, Fiorella; Cousillas Adriana. Presentación oral.
- Aplicación de un diseño experimental para la optimización de la determinación de arsénico inorgánico en agua mediante HG-FAAS (2018). Pizzorno, Paulina; Falchi, Lucía; Bühl, Valery; Pistón, Mariela; Mañay, Nelly. Poster.

Apéndice 11. Premios obtenidos

- Best Oral Presentation in MEDGEO'23 Monterrey Mexico, 9TH August 2023. Por la presentación del trabajo: *Risk assessment exploratory study associated with the presence of arsenic in groundwater in a rural area of the municipality of San Antonio, Uruguay.*
- Student Award por la destacada participación en la *Student Conference on Environmental Health and Medical Geology, Latin America Edition*. Se otorgó un año de membresía de la International Medical Geology Association (IMGA), diciembre de 2021 hasta diciembre de 2022 a Paulina Pizzorno.



Anexos

Anexo 1: Aprobación comité de ética para trabajo con la comunidad

Anexo 1. Aprobación comité de ética para trabajo con la comunidad



Fecha de emisión 25/06/2021

EL CONSEJO DE LA FACULTAD DE QUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA EN SESIÓN ORDINARIA DE FECHA 24 DE JUNIO DE 2021, ADOPTO LA SIGUIENTE RESOLUCIÓN:

102.

(Exp. N° 101900-500117-21) - 1.- Tomar conocimiento de la presentación del Proyecto "*Evaluación de riesgos a la salud por exposición al arsénico a través del agua*", que eleva su responsable, docente Paulina Pizzorno.

2.- Señalar que el mencionado Proyecto cuenta con el aval de la Comisión de Ética de Investigación en Seres Humanos de la Facultad de Química.(9 en 9)

Pase a SECCION COMISIONES Y CLAUSTRO

Ana Morquillo
Directora de División – Secretaria
Facultad de Química

Isidoro de María 1620 (Anexo A) C.P. 11800
Tel. (598 2) 924 18 84 Fax. (598 2) 924 60 79
Casilla de Correo 1157 E-mail: decano@fq.edu.uy
Montevideo - Uruguay