



FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

VALIDACIÓN DE DOS NUEVOS ENSAYOS PARA DETERMINAR ESPECIES INORGÁNICAS DE ARSÉNICO UTILIZANDO RESINA DE INTERCAMBIO IÓNICO Y CROMATOGRAFÍA IÓNICA

Línea de investigación:

Ecotoxicología y química ambiental

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciada en Química

Autora:

Ruffner Camargo, Betsabé Ana

Asesora Interna:

Castañeda Pérez, Luz Genara
(ORCID: 0000-0001-6684-8205)

Asesor Externo:

Chávez Ruiz, Manuel
(ORCID: 0000-0002-9693-024X)

Jurado:

Salvador Salazar, Martha
Herrera Hernández, Nora
Pumachagua Huertas, Rodolfo

Lima - Perú

2022

Referencia:

Ruffner, B. (2022). *Validación de dos nuevos ensayos para determinar especies inorgánicas de arsénico utilizando resina de intercambio iónico y cromatografía iónica*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Federico Villarreal]. Repositorio Institucional UNFV. <https://hdl.handle.net/20.500.13084/6074>



Reconocimiento - No comercial - Sin obra derivada (CC BY-NC-ND)

El autor sólo permite que se pueda descargar esta obra y compartirla con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se puede generar obras derivadas ni se puede utilizar comercialmente.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>



FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

**VALIDACIÓN DE DOS NUEVOS ENSAYOS PARA DETERMINAR ESPECIES
INORGÁNICAS DE ARSÉNICO UTILIZANDO RESINA DE INTERCAMBIO
IÓNICO Y CROMATOGRAFÍA IÓNICA**

Línea de investigación:

Ecotoxicología y química ambiental

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciada en Química

Autora:

Ruffner Camargo, Betsabé Ana

Asesora Interna:

Castañeda Pérez, Luz Genara

(ORCID: 0000-0001-6684-8205)

Asesor Externo:

Chávez Ruiz, Manuel

(ORCID: 0000-0002-9693-024X)

Jurado:

Salvador Salazar, Martha

Herrera Hernández, Nora

Pumachagua Huertas, Rodolfo

Lima – Perú

2022

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mi madre Ana María Camargo Galván y mi hermano Andrés Miguel Fernández Camargo, quienes son el motivo más grande para salir adelante y cumplir mis metas.

A mi papito Francisco y mamita Julia, que son los ángeles que guían mi camino.

A mi primo Luisito Camargo.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios que me da vida, fuerza y salud para seguir adelante día a día.

A mi madre Ana María Camargo Galván por su apoyo y amor incondicional, gracias a su esfuerzo estoy cumpliendo cada una de mis metas.

A mi hermano Andrés Miguel Fernández Camargo por su eterno amor incondicional.

A mi estimada asesora Dra. Luz Castañeda Pérez, por su tiempo, apoyo y orientación en esta tesis de investigación.

A mi asesor externo Mg. Manuel Chávez Ruiz, por su amistad, el apoyo y la asesoría en la realización de esta investigación.

ÍNDICE

Resumen	1
Abstract.....	2
I. INTRODUCCIÓN	3
1.1. Descripción y formulación del problema.....	4
1.2. Antecedentes	5
1.3. Objetivos.....	10
1.3.1. <i>Objetivo General</i>	10
1.3.2. <i>Objetivos Específicos</i>	10
1.4. Justificación	11
II. MARCO TEÓRICO.....	12
2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación	12
2.1.1. <i>Arsénico</i>	12
2.1.2. <i>Origen de arsénico</i>	14
2.1.3. <i>Usos del arsénico</i>	15
2.1.4. <i>Especies de arsénico</i>	16
2.1.5. <i>Toxicidad del arsénico</i>	19
2.1.6. <i>Mecanismo bioquímico de acción del arsénico</i>	21
2.1.7. <i>Biotransformación del arsénico</i>	21
2.1.8. <i>Procesos del arsénico dentro del organismo</i>	22
2.1.9. <i>Biomarcadores de exposición de arsénico</i>	23

2.1.10.	<i>Efectos en la salud humana</i>	25
2.1.11.	<i>Validación</i>	26
2.1.12.	<i>Tipos de validación</i>	26
2.1.13.	<i>Validación de ensayos fisicoquímicos</i>	27
2.1.14.	<i>Parámetros de validación de métodos analíticos</i>	28
2.1.15.	<i>Fundamento del ensayo determinación de especies inorgánicas de arsénico con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica</i>	30
2.1.16.	<i>Fundamento del ensayo determinación de especies inorgánicas de arsénico con cromatografía iónica</i>	32
III.	MÉTODOS	34
3.1.	Tipo de investigación.....	34
3.2.	Ámbito temporal y espacial	34
3.3.	Variables	34
3.3.1.	<i>Variables Independientes</i>	34
3.3.2.	<i>Variables dependientes</i>	34
3.4.	Población y muestra.....	35
3.5.	Instrumentos.....	35
3.5.1.	<i>Reactivos</i>	35
3.5.2.	<i>Materiales</i>	35
3.5.3.	<i>Equipos</i>	36
3.5.4.	<i>Estándares de referencia</i>	36

3.6.	Procedimientos.....	37
3.6.1.	<i>Ensayo determinación de especies inorgánicas de arsénico con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica.</i>	37
3.6.2.	<i>Ensayo determinación de especies inorgánicas de arsénico con cromatografía iónica.</i>	39
3.6.3.	<i>Aplicación exploratoria de ensayo determinación de especies inorgánicas de arsénico en agua de uso y consumo humano.</i>	41
3.7.	Análisis de datos - Desarrollo de los parámetros de validación	42
3.7.1.	<i>Linealidad.</i>	42
3.7.2.	<i>Sensibilidad analítica.</i>	43
3.7.3.	<i>Veracidad.</i>	43
3.7.4.	<i>Precisión</i>	44
3.7.5.	<i>Límite de detección del método (LDM).</i>	45
3.7.6.	<i>Límite de cuantificación del método (LCM).</i>	46
3.7.7.	<i>Rango de trabajo.</i>	46
3.7.8.	<i>Robustez.</i>	46
IV.	RESULTADOS	48
4.1.	Respecto a la validación del ensayo para determinación de especies de arsénico inorgánico con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica.	48
4.1.1.	<i>Linealidad.</i>	48

4.1.2.	<i>Sensibilidad analítica</i>	53
4.1.3.	<i>Veracidad para arsenito (As⁺³)</i>	54
4.1.4.	<i>Precisión para arsenito (As⁺³)</i>	58
4.1.5.	<i>Veracidad para arseniato (As⁺⁵)</i>	59
4.1.6.	<i>Precisión para arseniato (As⁺⁵)</i>	62
4.1.7.	<i>Límite de detección del método (LDM)</i>	63
4.1.8.	<i>Límite de cuantificación del método (LCM)</i>	64
4.1.9.	<i>Rango de trabajo</i>	68
4.1.10.	<i>Robustez</i>	72
4.1.11.	<i>Consolidado de resultados</i>	74
4.2.	Respecto a la validación del ensayo para determinación de especies de arsénico inorgánico con cromatografía iónica	75
4.2.1.	<i>Linealidad</i>	75
4.2.2.	<i>Sensibilidad analítica</i>	79
4.2.3.	<i>Veracidad para arseniato (As⁺⁵)</i>	80
4.2.4.	<i>Precisión para arseniato (As⁺⁵)</i>	84
4.2.5.	<i>Límite de detección del método (LDM)</i>	85
4.2.6.	<i>Límite de cuantificación del método (LCM)</i>	85
4.2.7.	<i>Rango de trabajo</i>	90
4.2.8.	<i>Consolidado de resultados</i>	94
4.3.	Comparación de las características los dos ensayos para la determinación de especies de arsénico inorgánico.	95

4.4. Respecto a la aplicación exploratoria de ensayo determinación de especies inorgánicas de arsénico en agua de uso y consumo humano.....	96
V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	99
VI. CONCLUSIONES.....	101
VII. RECOMENDACIONES	103
VIII. REFERENCIAS	104
IX. ANEXOS.....	112

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	<i>Posición del arsénico (As) en la tabla periódica y propiedades del elemento</i>	12
Figura 2	<i>Diagrama Eh-pH de especies acuosas de arsénico en el sistema As-O₂-H₂O</i>	17
Figura 3	<i>Especies de As⁺³ en función del pH</i>	18
Figura 4	<i>Especies de As⁺⁵ en función del pH</i>	18
Figura 5	<i>Biotransformación del arsénico inorgánico. GHS* = Glutathion Sulphhidrilol.</i>	22
Figura 6	<i>Diagrama esquemático del generador de hidruros.</i>	31
Figura 7	<i>Diagrama esquemático del cromatógrafo iónico.</i>	33
Figura 8	<i>Primera curva de calibración de As, por generación de hidruros(GH)- espectrometría de absorción atómica(EAA)</i>	49
Figura 9	<i>Segunda curva de calibración de As, por generación de hidruros(GH)- espectrometría de absorción atómica(EAA)</i>	50
Figura 10	<i>Tercera curva de calibración de As, por generación de hidruros(GH)- espectrometría de absorción atómica(EAA)</i>	50
Figura 11	<i>Correlación entre Respuesta y Concentración</i>	51
Figura 12	<i>Gráfica de dispersión de la Absorbancia vs Concentración del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica</i>	52
Figura 13	<i>Análisis de regresión: Respuesta vs. Concentración</i>	52
Figura 14	<i>Gráfica de normalidad de los residuos del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica.....</i>	53

Figura 15 Prueba de valores atípicos para valores de As^{+3} del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica	55
Figura 16 Gráfica de valores atípicos para valores de As^{+3} del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica	56
Figura 17 Gráfica de normalidad para valores de As^{+3} del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica.....	57
Figura 18 Prueba de T-Student para valores de As^{+3} del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica.....	57
Figura 19 Prueba Chi-cuadrado para valores de As^{+3} del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica.....	58
Figura 20 Prueba de valores atípicos para valores As^{+5} del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica	59
Figura 21 Gráfica de valores atípicos para valores de As^{+5} del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica	60
Figura 22 Gráfica de normalidad para valores de As^{+5} del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica.....	61
Figura 23 Prueba de T-Student para valores de As^{+5} del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica.....	61

Figura 24 Prueba Chi-cuadrado para valores de As^{+5} del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica.....	62
Figura 25 Prueba de valores atípicos para valores de LCM del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica	65
Figura 26 Gráfica de valores atípicos para valores de LCM del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica	65
Figura 27 Gráfica de normalidad para valores de LCM del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica	66
Figura 28 Prueba de T-Student para valores de LCM del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica.....	66
Figura 29 Prueba Chi-cuadrado para valores de LCM del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica.....	67
Figura 30 Prueba de valores atípicos para valores de conc. máxima detectable del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica	69
Figura 31 Gráfica de valores atípicos para valores de conc. máxima detectable del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica	69

Figura 32 <i>Gráfica de normalidad para valores de conc. máxima detectable del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica</i>	70
Figura 33 <i>Prueba de T-Student para valores de conc. máxima detectable del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica</i>	71
Figura 34 <i>Prueba Chi-cuadrado para valores de LCM del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica iónico.</i>	72
Figura 35 <i>Primera curva de calibración de As^{+5} por cromatografía iónica</i>	76
Figura 36 <i>Segunda curva de calibración de As^{+5} por cromatografía iónica</i>	76
Figura 37 <i>Tercera curva de calibración de As^{+5} por cromatografía iónica</i>	76
Figura 38 <i>Correlación entre Respuesta y Concentración</i>	77
Figura 39 <i>Gráfica de dispersión de la Absorbancia vs Concentración del ensayo con cromatografía iónica</i>	78
Figura 40 <i>Análisis de regresión: Respuesta vs. Concentración</i>	78
Figura 41 <i>Gráfica de normalidad de los residuos del ensayo con cromatografía iónica.</i>	79
Figura 42 <i>Prueba de valores atípicos para valores As^{+5} del ensayo con cromatografía iónica</i>	81
Figura 43 <i>Gráfica de valores atípicos para valores de As^{+5} del ensayo con cromatografía iónica</i>	82
Figura 44 <i>Gráfica de normalidad para valores de As^{+5} del ensayo con cromatografía iónica</i>	83

Figura 45 Prueba de T-Student para valores de As+5 del ensayo con cromatografía iónica	83
Figura 46 Prueba Chi-cuadrado para valores de As+5 del ensayo con cromatografía iónica	84
Figura 47 Prueba de valores atípicos para valores de LCM del ensayo con cromatografía iónica	86
Figura 48 Gráfica de valores atípicos para valores de LCM del ensayo con cromatografía iónica	87
Figura 49 Gráfica de normalidad para valores de LCM del ensayo con cromatografía iónica	88
Figura 50 Prueba de T-Student para valores de LCM del ensayo con cromatografía	88
Figura 51 Prueba Chi-cuadrado para valores de LCM del ensayo con cromatografía	89
Figura 52 Prueba de valores atípicos para valores de conc. máxima detectable del ensayo con cromatografía iónica	91
Figura 53 Gráfica de valores atípicos para valores de conc. máxima detectable del ensayo con cromatografía iónica	91
Figura 54 Gráfica de normalidad para valores de conc. máxima detectable del ensayo con cromatografía iónica	92
Figura 55 Prueba de T-Student para valores de conc. máxima detectable del ensayo con cromatografía iónica.	92
Figura 56 Prueba Chi-cuadrado para valores de LCM del ensayo con cromatografía iónica.	93
Figura 57 Reservorio de agua para uso y consumo del Centro Poblado Montesierpe.....	96

Figura 58 <i>Toma de muestra de agua para análisis de especies de arsénico inorgánico...</i>	96
Figura 59 <i>Muestra de agua para análisis de especies de arsénico inorgánico.</i>	97
Figura 60 <i>Especiación de arsénico inorgánico mediante ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica.</i>	97
Figura 61 <i>Equipo de generación de hidruros (GH) acoplado a espectrometría de absorción atómica (EAA).</i>	98

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 <i>Compuestos de arsénico orgánico de interés medioambiental</i>	19
Tabla 2 <i>Condiciones cromatográficas</i>	40
Tabla 3 <i>Resultados de concentración y absorbancia para el parámetro linealidad del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica</i>	48
Tabla 4 <i>Resumen de regresión lineal del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica</i>	51
Tabla 5 <i>Análisis de varianza del ensayo con resina de intercambio iónico</i>	54
Tabla 6 <i>Resultados obtenidos de valores de As^{+3} del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica</i>	55
Tabla 7 <i>Resultados obtenidos de valores de As^{+5} del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica</i>	59
Tabla 8 <i>Resultados de muestras con baja concentración para el ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica</i>	63
Tabla 9 <i>Resultados del LCM para el ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica</i>	64
Tabla 10 <i>Resultados de Rango alto para el ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica</i>	68
Tabla 11 <i>Variables y factores de robustez</i>	73
Tabla 12 <i>Resultados de las variaciones para prueba de robustez</i>	73

Tabla 13 <i>Efecto de los factores</i>	73
Tabla 14 <i>Consolidado de resultados de los parámetros de validación para el ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica</i>	74
Tabla 15 <i>Resultados de concentración y absorbancia para el parámetro linealidad del ensayo con cromatografía iónica</i>	75
Tabla 16 <i>Resumen de regresión lineal del ensayo con cromatografía iónica</i>	77
Tabla 17 <i>Análisis de varianza del ensayo con cromatografía iónica</i>	80
Tabla 18 <i>Resultados obtenidos de valores de As⁺⁵ del ensayo con cromatografía iónica</i> .	81
Tabla 19 <i>Resultados de muestras con baja concentración para el ensayo con cromatografía iónica</i>	85
Tabla 20 <i>Resultados del LCM para el ensayo con cromatografía iónica</i>	86
Tabla 21 <i>Resultados obtenidos de valores de Rango alto para el ensayo con cromatografía iónica</i>	90
Tabla 22 <i>Consolidado de resultados de los parámetros de validación par el ensayo con cromatografía iónica</i>	94
Tabla 23 <i>Comparación de las características de los ensayos para la especiación de arsénico inorgánico</i>	95
Tabla 24 <i>Resultado de arsénico total y especiación de arsénico inorgánico de muestra de agua de uso y consumo humano mediante ensayo con resina de intercambio iónico</i>	98

Resumen

Objetivo: Validar estadísticamente dos nuevos ensayos para la determinación de especies inorgánicas de arsénico utilizando resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica y cromatografía iónica. **Método:** La tesis tuvo un diseño experimental, es aplicada y con enfoque cuantitativo. Se estudiaron dos ensayos para la determinación de arsénico inorgánico; por separación con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica y por cromatografía iónica. Estos ensayos se implementaron para soluciones estandarizadas, validándose los parámetros de linealidad, sensibilidad analítica, veracidad, precisión, límite de detección, límite de cuantificación, rango de trabajo y robustez con el software estadístico de Minitab y hoja de cálculo de Microsoft Excel. **Resultados:** Los ensayos con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica y cromatografía iónica para el parámetro linealidad tuvieron un coeficiente de correlación $r = 0.9989$ y 0.9985 ; los límites de detección fueron $0.32\mu\text{g/L}$ y $31.4\mu\text{g/L}$ y el límite de cuantificación $1.0\mu\text{g/L}$ y $100\mu\text{g/L}$, respectivamente. Los resultados de los parámetros de las soluciones evaluadas fueron comparados con normas internacionales, demostrándose que son óptimos para la determinación de especies inorgánicas de arsénico para soluciones acuosas. **Conclusiones:** Los dos ensayos propuestos mostraron veracidad y precisión en la determinación de especies inorgánicas de arsénico en soluciones acuosas; por lo que son fiables y tienen la ventaja de ser alternativas más económicas a las que comúnmente utilizamos.

Palabras clave: arsénico, especiación, resinas de intercambio, cromatografía iónica, validación.

Abstract

Objective: To statistically validate two new assays for the determination of inorganic arsenic species using ion exchange resin coupled to hydride generation-atomic absorption spectrometry and ion chromatography. **Method:** The thesis had an experimental design, is applied and with a quantitative approach. Two assays were studied for the determination of inorganic arsenic; by separation with ion exchange resin coupled to hydride generation-atomic absorption spectrometry and by ion chromatography. These assays were implemented for standardized solutions, validating the parameters of linearity, analytical sensitivity, trueness, precision, limit of detection, limit of quantification, working range and robustness with Minitab statistical software and Microsoft Excel spreadsheet. **Results:** The assays with ion exchange resin coupled to hydride generation-atomic absorption spectrometry and ion chromatography for the linearity parameter had a correlation coefficient $r = 0.9989$ and 0.9985 ; the limits of detection were $0.32\mu\text{g/L}$ and $31.4\mu\text{g/L}$ and the limit of quantification $1.0\mu\text{g/L}$ and $100\mu\text{g/L}$, respectively. The results of the parameters of the evaluated solutions were compared with international standards, demonstrating that they are optimal for the determination of inorganic arsenic species for aqueous solutions. **Conclusions:** The two proposed assays showed trueness and precision in the determination of inorganic arsenic species in aqueous solutions; therefore, they are reliable and have the advantage of being more economical alternatives to those commonly used.

Keywords: arsenic, speciation, exchange resins, ion chromatography, validation.

I. INTRODUCCIÓN

La presente tesis de investigación desarrolla dos ensayos para la determinación de arsénico inorgánico usando resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica y cromatografía iónica; estos dos ensayos pretenden ser nuevas alternativas respecto a los convencionales ensayos que emplean tecnologías avanzadas como son únicas posibilidades para la determinación de especies de arsénico inorgánico en aguas.

El arsénico como elemento natural, se encuentra distribuido mayormente en la superficie terrestre; presente en el agua, el aire y el suelo. Hay numerosos casos de presencia de niveles elevados de arsénico en aguas subterráneas, lo cual hace que no sean aptas para consumo humano (Sepúlveda, 2009). Es un problema muy importante a nivel mundial en salud pública ya que esta exposición de personas a estos niveles no adecuados de As en el agua se relaciona con el aumento de la incidencia de cáncer y enfermedades cardiovasculares (Saborío y Higaldo, 2015). La exposición se da principalmente a través del agua y los alimentos; por especies de arsénico inorgánico y orgánico, cada una de estas formas posee diferentes propiedades fisicoquímicas, biodisponibilidad, toxicidad y movilidad, dependiendo de la forma química en la que se encuentre.

Así como otros elementos, la determinación total de arsénico es insuficiente para dar a conocer una evaluación detallada sobre las consecuencias ambientales y clínicas que genera su presencia. Históricamente el orden de toxicidad para las especies de arsénico, donde los arsenicales inorgánicos solubles aparecen más tóxicos que los orgánicos, y el As^{+3} inorgánico aparece como más tóxico que el As^{+5} inorgánico, demanda una necesidad en el

análisis de “especiación” arsenical ya que tiene una importancia biológica y toxicológica e involucra un desarrollo de metodologías para su determinación selectiva (Sigrist, 2009). Un hecho importante a la hora del desarrollo de tecnologías para tratamiento de arsénico en agua de consumo es conocer la forma química en la que se encuentra ya que la eficiencia de los procesos de remoción depende principalmente de ello.

1.1. Descripción y formulación del problema

El arsénico es un elemento que se encuentra de manera natural en aguas subterráneas y aguas superficiales, sin embargo, es más frecuente en aguas subterráneas y estas aguas constituyen la mayor reserva de agua potable en el mundo, por ello es primordial conservarla y mantenerla libre de contaminación. El arsénico es muy tóxico en su forma inorgánica, presente predominantemente en agua y esto implica una mayor amenaza para la salud pública en su uso para beber, preparar alimentos o regar cultivos. La exposición prolongada a bajas concentraciones de este elemento; a través de su ingesta por agua o alimentos, puede causar cáncer o lesiones cutáneas, a su vez está asociado a problemas cardiovasculares, neurotoxicidad y diabetes (Peregrino, 2016).

La prevención de la exposición prolongada al arsénico es una necesidad, la cual se lleva a cabo con sistemas seguros en las comunidades de abastecimiento de agua potable. En el Perú la normativa referente al arsénico en agua potable en el Perú se aplica bajo el DS N° 031-2010-SA, con un límite de 10 µg/L (Medina-Pizzali et al., 2018). Los procesos de tratamiento de arsénico en agua dependen de varios factores, entre ellos la especie predominante de arsénico presente en el agua y el pH en el que se encuentre, ambas especies (arsenito y arseniato) se encuentran como aniones disueltos, a un pH por debajo de 9.2, el

arsenito no tiene carga y por lo tanto dificulta la remoción en procesos que depende de carga (intercambio iónico, absorción de hidróxidos de hierro). El arseniato en un rango de pH de 2 – 12, se encuentra en forma de oxianiones por lo que es más fácil su remoción. Por lo tanto, por esta razón, para eliminar el arsenito de las aguas, como primera etapa, es necesario pre-oxidarlo para después removerlo (Litter et al., 2009; Van et al., 2009).

Las metodologías utilizadas para la determinación de especies inorgánicas de arsénico, involucran tecnología avanzada, tales como; espectrómetro de masas de ionización por electro spray (ESI-MS), Cromatografía Líquida (LC) acoplada a ICP-MS (LC-ICP-MS), sistemas automatizados como Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento acoplada a la Espectrometría de Masas-Horno de Grafito y HPLC-ICP-MS y a su vez son costosas y complejas (Pohl y Prusisz, 2004).

En base a lo descrito, formulamos el siguiente problema principal: ¿Será posible validar estadísticamente dos ensayos para la determinación de especies inorgánicas de arsénico utilizando resina de intercambio iónico y cromatografía iónica?

Y como problemas secundarios: ¿Cuáles son las ventajas y desventajas del ensayo por resina de intercambio iónico con el ensayo por cromatografía iónica?

1.2. Antecedentes

Suchecky et al. (2021), optimizó y validó una metodología para la especiación de arsénico en arroz utilizando cromatografía líquida y espectrometría de masas de plasma acoplado inductivamente. La separación cromatográfica y la elución de arsenito, ácido

dimetilarsénico, ácido monometilarsénico y arseniato se lograron en menos de 8 min usando 10 mmol/L $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ como fase móvil, a pH 6 y un caudal de 1,4 mL/min. Los límites de detección para As^{+3} , DMA^{+5} , MMA^{+5} y As^{+5} en arroz fueron 1.87, 2.89, 0.54 y 3.00 ng/g, respectivamente. La precisión del método se evaluó mediante pruebas de recuperación de analitos y análisis de materiales de referencia certificados, que incluían harinas de arroz blanco e integral. El método validado se aplicó para la especiación de As en 640 muestras de arroz, que comprendían arroz pulido (blanco), arroz sancochado y arroz integral, recolectadas de diferentes mesorregiones en el estado de Rio Grande do Sul en Brasil. Al comparar la concentración total de arsénico encontrada en las muestras digeridas con ácido con la suma de las especies de As, las eficiencias de extracción promedio fueron $98 \pm 13 \%$, $93 \pm 12 \%$ y $86 \pm 6 \%$, para arroz blanco, sancochado e integral, respectivamente.

En el artículo de Zhang et al. (2019), ofrecen una descripción general de los métodos ópticos de medición de arsénico inorgánico (arsenito y arseniato). A su vez presentan y discuten las estrategias colorimétricas, de dispersión y fluorimétricas para la detección de arsénico inorgánico basadas en las moléculas orgánicas/biológicas y su acoplamiento con nanomateriales inorgánicos. La presente revisión destaca y resume las ventajas/limitaciones del mecanismo de detección de arsenito y arseniato. Además, también se proponen perspectivas y desarrollos futuros de sensores ópticos para análisis de arsénico.

Assis et al. (2019), utilizaron para este trabajo la técnica de extracción líquido-líquido de sistemas acuosos de dos fases (ATPS) formados por un polímero y electrolito para desarrollar una metodología novedosa para la extracción, determinación y análisis de especiación de arsénico inorgánico. Para optimizar la metodología, se estudiaron los siguientes parámetros: pH del sistema, naturaleza del electrolito formador de ATPS y del

polímero, longitud de la línea de unión del sistema, tipo y concentración de extractantes y la relación de masa de las fases superior e inferior. El método fue validado empleando HG-ICP-OES con un coeficiente de determinación de 0,9957 y límites de detección y cuantificación iguales a $0,20 \mu\text{g kg}^{-1}$ y $0,66 \mu\text{g kg}^{-1}$, respectivamente, demostrando que el método es capaz de detectar las bajas concentraciones exigidas por la legislación. Los valores de la desviación estándar relativa (RSD) variaron entre 4.88 y 9.45%, y la RSD en precisión interdiaria fue de 11.07%, los cuales están de acuerdo con los límites de la guía de validación utilizada por el Instituto Nacional de Metrología, Calidad y Tecnología. Además, las tasas de error relativo variaron de -7,44 a 9,90% y los porcentajes de recuperación estuvieron entre 92,6 y 110% para los estudios de precisión. Este método también se aplicó en una muestra de agua del grifo enriquecida, presentando un valor de recuperación igual al 87,10%.

Polo (2014), realizó, un trabajo debido al grave problema de la presencia de arsénico en las aguas subterráneas de la Cuenca del Duero, que llevó a cabo un muestreo y posterior análisis de muestras de la zona. Se realizó la especiación de dos de las especies de arsénico; As^{+3} y As^{+5} , mediante HPLC/ICP-MS después de realizar la optimización del método analítico. Además, realizó la determinación de otras variables hidroquímicas del agua subterránea para comprobar su relación con los niveles y especiación de arsénico mediante análisis estadístico multivariante. Paralelamente, realizó un ensayo para dilucidar las condiciones de estabilización de las muestras en las que se va a realizar la especiación de As. Comprobando que la especie predominante de As en las aguas analizadas es arseniato.

En el trabajo presentado por Tuzen et al. (2010), se ha establecido un procedimiento para la especiación de arsenito y arseniato en muestras de agua natural. Se recuperaron

cuantitativamente iones de arsenito en resina Diaion HP-2MG recubierta con *Alternaria solani* a pH 7, mientras que la recuperación de arseniato fue inferior al 10%. El arseniato en la solución de mezcla que contenía As^{+3} y As^{+5} se redujo usando KI y solución de ácido ascórbico, luego se aplicó el procedimiento para la determinación del arsénico total. El arseniato se calculó como la diferencia entre el contenido total de arsénico y el contenido de arsenito. La determinación de arsénico se realizó mediante espectrometría de absorción atómica de generación de hidruros. El método se aplicó sucesivamente para la determinación y especiación de arsénico inorgánico en agua, alimentos y muestras biológicas.

Chavez (2009), realizó un trabajo donde, se evaluaron dos técnicas analíticas de especiación de las dos formas de arsénico inorgánico en agua fluvial de Tacna, en el sur del Perú, se desarrolló un estudio comparativo entre la técnica de separación por resina de intercambio aniónico y la cromatografía iónica para la especiación del As^{+5} y As^{+3} en muestras de agua de cuatro ríos de la vertiente del Pacífico en dos distritos de la región Tacna. La cantidad de arsénico total se determinó con el sistema de inyección de flujo asistido con absorción atómica. Como resultados el autor indicó un buen grado de separación en ambos procedimientos, sin embargo, la técnica de resinas de intercambio aniónico tiene un límite de detección inferior que la cromatografía iónica, 2,0 $\mu\text{g/L}$ y 32 $\mu\text{g/L}$, respectivamente. En cuatro de las seis muestras se obtuvieron valores superiores a los recomendados por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos, y en ellas se logró determinar las cantidades de arsenito y arseniato. Concluyendo que la técnica de separación por resina de intercambio aniónico tiene mayor sensibilidad de detección de arsénico que la cromatografía iónica y permite un alto grado de especiación del arsénico inorgánico en muestras de agua fluvial.

Navoni et al. (2009), en el laboratorio toxicológico Analítico (CENATOXA, 2009) optimizó y validó una técnica para la cuantificación de As [As suma = As inorgánico (AsI) + especies metiladas: ácido monometilarsónico (MMA) y ácido dimetilarsínico (DMA)], producto del metabolismo del Arsénico inorgánico, por inyección en flujo- generación de hidruros- espectrometría de absorción atómica (IF-GH-EAA), previa derivatización con L-cisteína. La recuperación de las especies estudiadas: As inorgánico (As III y As V), MMA y DMA fue cercana al 100% en todos los casos. Los límites de detección y cuantificación encontrados fueron para agua y orina: 2 y 3 $\mu\text{g/L}$; 5 y 8 $\mu\text{g/L}$ respectivamente y el rango dinámico de trabajo establecido fue desde 5 a 75 $\mu\text{g/L}$, permitiendo cuantificar As en muestras de agua cercanos a los estándares internacionales vigentes para valores máximos de As en agua de consumo y en orina en niveles comparables con los establecidos en población laboralmente no expuesta.

Xie et al. (2006), en Instituto de Ciencias de la Salud Ambiental y Ocupacional y el Departamento de Química y Biología-Química de la Universidad de Nueva Jersey junto con el Departamento de Protección Ambiental (2006), se desarrolló un método sensible y robusto para la determinación de siete especies de arsénico inorgánico y orgánico usando la cromatografía de intercambio iónico combinada con espectrometría de masas plasmática acoplada inductivamente (IC-ICP-MS). Tanto las columnas de intercambio aniónico como catiónico se usaron de forma complementaria. Arsenito (As^{+3}), arseniato (As^{+5}), ácido monometilarsónico (MMA^{+5}) y ácido dimetilarsínico (DMA^{+5}) se separaron selectivamente mediante una columna de intercambio aniónico usando hidróxido sódico (NaOH) gradiente de elución, mientras que el ácido monometilarsenioso (MMA^{+3}), ácido dimetilarsenioso (DMA^{+3}) y arsenobetaína (AsB) se separaron mediante una columna de intercambio catiónico usando ácido nítrico 70 mM como fase móvil. Se lograron la separación basal, alta

repetibilidad y bajos límites de detección (0.10-0.75 ngmL⁻¹). Usaron muestras de orina que fueron enriquecidas y se analizaron con este método para evaluar el efecto de la matriz en el método.

B'Hymer et al. (2004), hacen una revisión que describe los antecedentes esenciales y la toxicidad del arsénico en el medio ambiente y, lo que es más importante, algunas aplicaciones cromatográficas y procedimientos de manipulación de muestras que se utilizan actualmente para detectar y cuantificar con precisión el arsénico en sus diversas formas químicas. En esta revisión se presentan aplicaciones y trabajos que utilizan solo HPLC-ICP-MS para la especiación de arsénico de muestras ambientales y biológicas.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo General

Validar estadísticamente dos nuevos ensayos para la determinación de especies inorgánicas de arsénico utilizando resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica y cromatografía iónica.

1.3.2. Objetivos Específicos

- Validar estadísticamente un nuevo ensayo de análisis para la cuantificación de especies inorgánicas de arsénico en soluciones acuosas utilizando resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica.

- Validar estadísticamente un nuevo ensayo de análisis para la cuantificación de especies inorgánicas de arsénico en soluciones acuosas mediante cromatografía iónica.
- Evaluar las ventajas y desventajas de los dos ensayos validados (por resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica y por cromatografía iónica) para la determinación de especies inorgánicas de arsénico en soluciones acuosas.

1.4. Justificación

Para el arsénico, así como para otros metales, la toxicidad, actividad biológica y destino medioambiental depende de la especie química presente y del medio en que se encuentre. Por lo tanto, para evaluar la exposición y posible remoción de este elemento en diferentes medios, es necesario tener en cuenta la toxicidad de sus compuestos, dependiendo de su estado de oxidación, su forma química y solubilidad en el medio.

La determinación de especies inorgánicas de arsénico en agua no se realiza en Perú, debido a que estos emplean tecnologías con acoplamientos de equipos más complejos, lo que implica un mayor costo para realizarlo. Este estudio propone llevar a cabo el análisis de especies inorgánicas de arsénico (arsenito y arseniato), a través de la comparación de dos ensayos que no involucren costos elevados, sean confiables y prácticas.

II. MARCO TEÓRICO

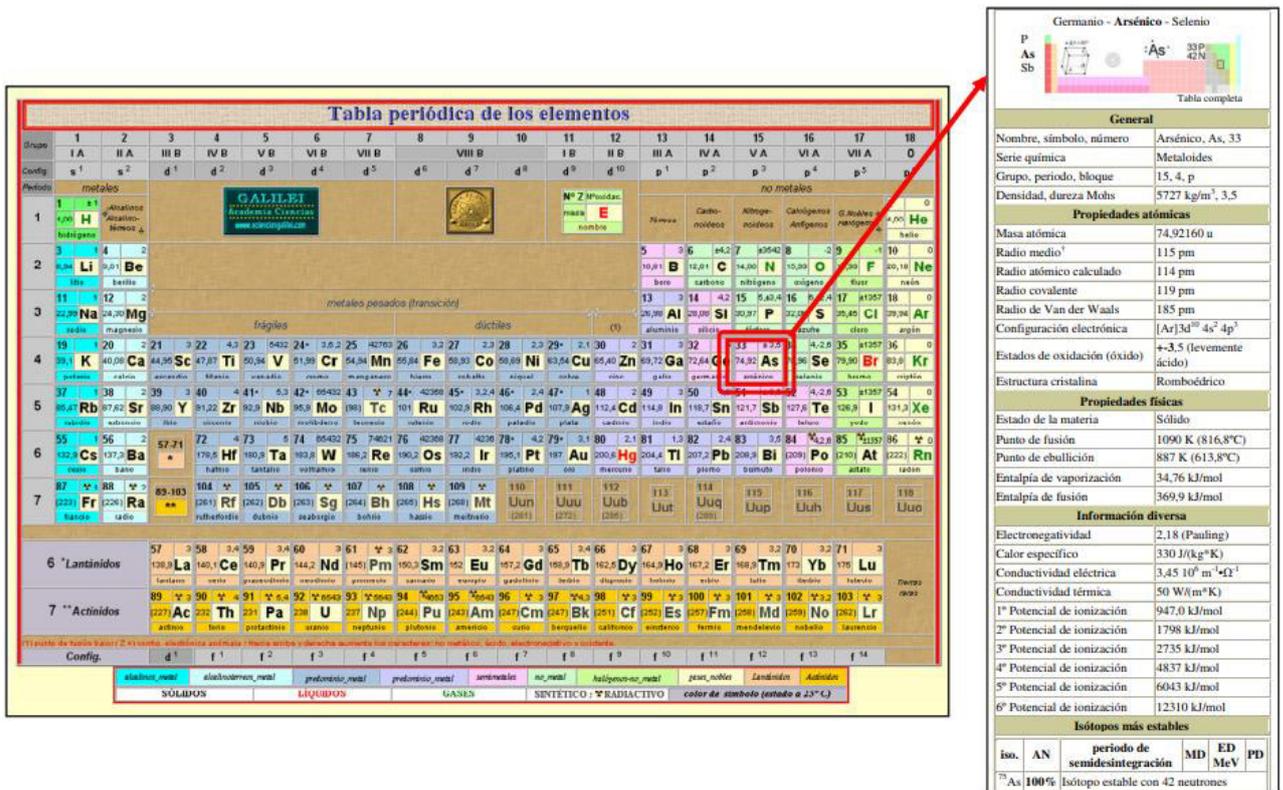
2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación

2.1.1. Arsénico

El arsénico (As), perteneciente al grupo 15 de la Tabla Periódica, por lo tanto, es un elemento nitrogenoide, con propiedades como la baja conductividad se comporta como un metal y no metal, por ello se le considera como un elemento metaloide o semimetálico. Su número atómico es 33, con peso atómico de 74.921 g/mol, configuración electrónica $[Ar]3d^{10}4s^24p^3$ (García, 2013). Por su posición en la tabla periódica, este elemento presenta un comportamiento químico similar al del fósforo, hecho que conlleva múltiples implicaciones tanto a nivel edáfico como sobre la toxicidad del arsénico para las plantas.

Figura 1

Posición del arsénico (As) en la tabla periódica y propiedades del elemento



Nota. Tomado de Moreno, 2010.

El arsénico elemental o arsénico metálico, es un material sólido de color gris acero, quebradizo y amorfo. Se encuentra como impureza de otros metales, cobre, plomo, cinc u oro y es raro hallarlo puro en la naturaleza (Ramirez, 2013). Según la Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades, traducido del inglés Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR, 2007); en el ambiente, el arsénico se combina con otros elementos; por ejemplo, cuando se combina con oxígeno, cloro y azufre forma compuestos inorgánicos y cuando se combina con carbono e hidrógeno se forman compuestos orgánicos. El aire húmedo oxida fácilmente al arsénico produciendo trióxido que es muy tóxico, aunque algunas de sus formas orgánicas intervienen en los procesos metabólicos de varias especies (Ramirez, 2013).

Está distribuido en todo nuestro entorno (aire, agua y tierra), cuyo origen podría deberse a formas naturales o producto de actividades antropogénicas (Saborío y Higaldo, 2015). Es uno de los elementos más abundantes en la corteza terrestre (Galetovic y De Fernicola, 2003), ocupando el lugar número veinte en abundancia natural, catorce en agua de mar y doce en el cuerpo humano (Peregrino, 2016). Presenta cuatro diferentes estados de oxidación; arseniato As^{+5} , arsenito As^{+3} , As elemental (0) y arseniuro As^{-3} (Rangel et al., 2015; García, 2013), esto le permite tener varias formas químicas que se relacionan con la toxicidad y biodisponibilidad (Xie et al., 2006).

Las especies químicas más importantes son: Arseniato y otras formas inorgánicas de As^{+5} , Arsenito y otras formas inorgánicas de As^{+3} , formas metiladas de As^{+5} como el ácido dimetilarsínico (DMA^{+5} , el monometilarsonato (MMA^{+5}) y otras formas orgánicas de As^{+5} , formas metiladas de As^{+3} como el ácido dimetilarsenioso (DMA^{+3}) y otras formas orgánicas

de As^{+3} , óxido de trimetilarsina (TMAO^{+5}), arsenobetaína (AB), arsenocolina (AC), catión tetrametilarsonio (TMA^{+}), arsenoazúcares, arsenolípidos y otras especies (Litter et al., 2009).

2.1.2. Origen de arsénico

2.1.2.1. Origen natural. El arsénico tiene principalmente origen y formación en la corteza terrestre, presente en rocas y sus minerales. La desintegración y lixiviación de rocas, y los procesos geoquímicos naturales, permiten su movilización y liberación al ambiente, donde el agua subterránea y superficial se afectan más con este elemento. Para llegar a una mejor descripción de muchos sistemas naturales, los procesos fisicoquímicos comprometidos son los procesos de adsorción y de intercambio iónico (Alarcón et al., 2013).

Aún no se define del todo la existencia de arsénico en aguas subterráneas, se sugiere que, bajo condiciones oxidantes, junto con las bajas velocidades del flujo subterráneo y la evaporación; permiten la disolución o desorción de minerales presentes en estas aguas (Alarcón et al., 2013).

El control de emisiones de contaminantes, determina la calidad de aguas superficiales, en el caso de las aguas subterráneas se identifican las áreas y mecanismos que permitan la entrada de contaminantes en el flujo y el posible desarrollo de transporte de éstos (Alarcón et al., 2013).

A pesar de las bajas concentraciones de arsénico en la atmosfera, éste juega un papel fundamental ya que los elementos traza son capaces de ser transportados a zonas de largas

distancia. El arsénico entra en la atmósfera por procesos de erosión, emisiones volcánicas, emisiones en incendios forestales y otros procesos y retorna a la corteza terrestre por procesos de deposición seca y deposición húmeda (Alarcón et al., 2013).

2.1.2.2. Origen antropogénico. Las principales actividades humanas fuentes de As son la minería, la siderurgia, la agricultura, la silvicultura, las plantas de tratamiento de combustibles fósiles, los desechos urbanos y la ganadería. Los residuos urbanos, que son usados ocasionalmente como acondicionamiento orgánico de suelos, pueden contener arsénico en cantidades variables. A su vez, los combustibles fósiles contienen también concentraciones de arsénico que pueden provocar en tiempos prolongados un enriquecimiento en la zona afectada por los gases originados en la combustión. Todo ello provoca una liberación del elemento al ambiente y puede contaminar estos suelos en As. Por último, numerosos plaguicidas, fungicidas y biocidas utilizados para controlar enfermedades en cultivos agrícolas y forestales contenían arsénico en su fórmula (Moreno, 2010).

2.1.3. Usos del arsénico

El uso más amplio del arsénico comercial e industrial es como agente de aleación en baterías para automóviles, en la fabricación de transistores, láseres, semiconductores y diodos que emiten luz, según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2003).

Los agricultores usaron compuestos inorgánicos de arsénico como el arseniato de calcio, el arseniato de plomo, el arseniato de sodio y muchos otros se utilizaron como insecticidas / pesticidas principalmente en cosechas de algodón y huertos frutales., actualmente están prohibidos debido a la mayor comprensión de la toxicidad del arsénico y

a la conciencia sobre la seguridad alimentaria y la contaminación ambiental (Bhattacharya et al., 2007).

Actualmente compuestos orgánicos de arsénico, como, ácido cacodílico, arseniato de metilo bisódico (DSMA) y arseniato de metilo monosódico (MSMA), aún se usan como plaguicidas, principalmente en algodón. Algunos compuestos orgánicos de arsénico se usan como suplementos en alimentos para animales. (ATSDR, 2007).

Casi el 90% del arsénico que se producía, era usado como preservante para madera, para que esta no se deteriore o se pudra, eran los preparativos solubles en agua, como el arseniato de cobre cromado (CCA) y otros productos químicos a base de As. Éstos han provocado una contaminación generalizada de metales en los suelos alrededor de las instalaciones de conservación de la madera (Bhattacharya et al., 2007).

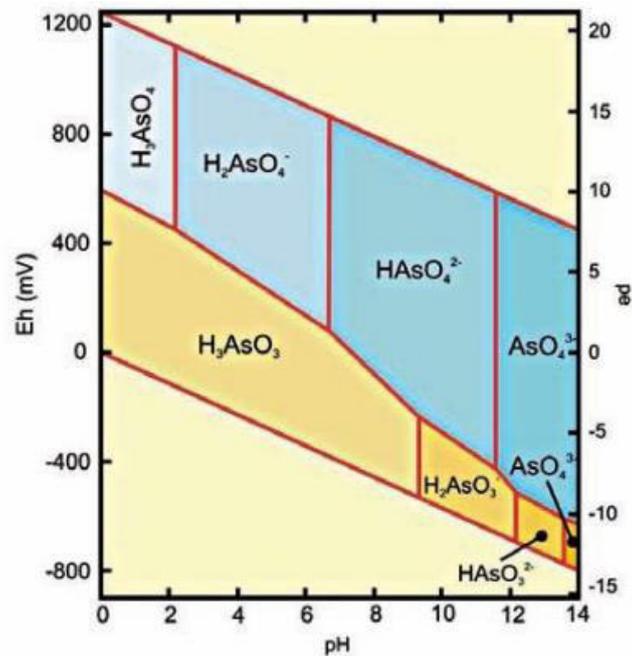
2.1.4. Especies de arsénico

2.1.4.1. Especies inorgánicas. La especie de arsénico común en el ambiente, es la forma inorgánica predominando los estados de oxidación de As^{+3} y As^{+5} , dependiendo de factores físicos, químicos y biológicos, en este último factor, los microorganismos juegan un papel fundamental, ya que muchas bacterias son capaces de transformar As^{+3} a As^{+5} y viceversa, como un mecanismo de defensa de algunas especies bacterianas (Rangel et al., 2015). El potencial redox (Eh) y el pH son controles importantes en el estado de oxidación del As y su movilidad (Figura 1). En aguas naturales el As se encuentra, en general, como especie disuelta, formando oxianiones (Litter et al., 2009).

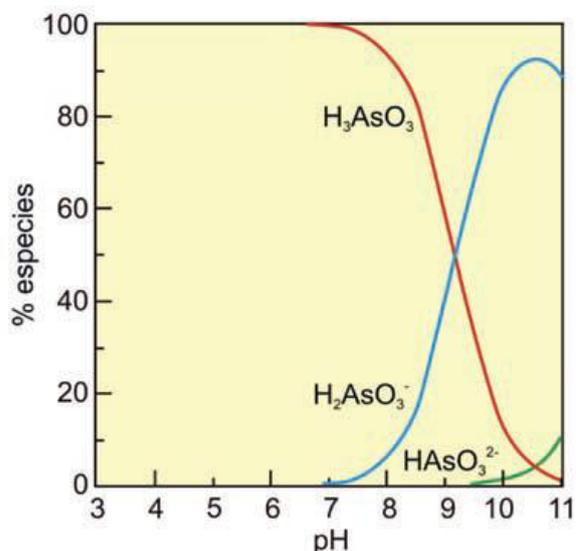
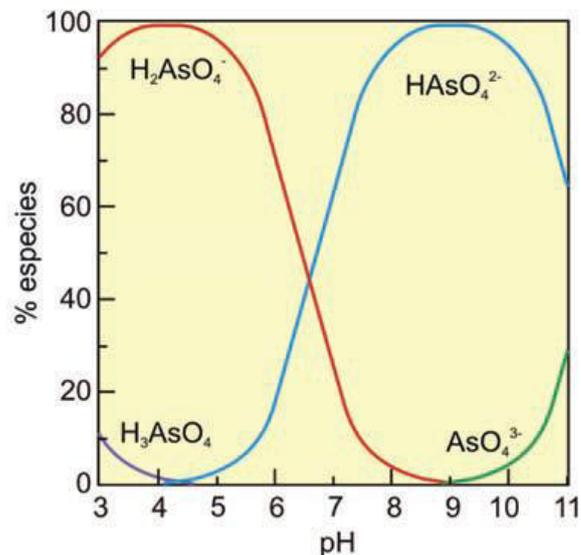
El As^{+3} se encuentra como arsenito (H_3AsO_3) y sus correspondientes productos de disociación (H_4AsO_3^+ , H_2AsO_3^- , HAsO_3^{2-} y AsO_3^{3-}), los cuales, en condiciones oxidantes, son dominantes a pH alcalinos. Sin embargo, la forma sin carga del As^{+3} [$\text{As}(\text{OH})_3$] es dominante en ambientes reducidos y anóxicos, siendo así el más tóxico y difícil de eliminar (Figura 2). Por su parte el As^{+5} está presente en la forma arseniato (H_3AsO_4) y sus correspondientes productos de disociación (H_2AsO_4^- , HAsO_4^{2-} y AsO_4^{3-}), siendo dominante bajo condiciones oxidantes a pH ácidos en ambientes acuosos y aeróbicos (Figura 3) (Rangel et al., 2015).

Figura 2

Diagrama Eh-pH de especies acuosas de arsénico en el sistema $\text{As}-\text{O}_2-\text{H}_2\text{O}$



Nota. Tomado de Litter et al., 2009.

Figura 3*Especies de As⁺³ en función del pH**Nota.* Tomado de Litter, et al., 2009.**Figura 4***Especies de As⁺⁵ en función del pH**Nota.* Tomado de Litter, et al., 2009.

2.1.4.2. Especies Orgánicas. Los compuestos orgánicos arsenicales contienen arsénico en forma trivalente o pentavalente unido a un átomo por medio de uniones covalentes. Estas especies están ampliamente distribuidas en la atmósfera, sistemas acuáticos, suelo, sedimentos y tejidos biológicos (Peregrino, 2016). Las reacciones de metilación medidas biológicamente que ocurren en organismos terrestres y marinos convierten el arsenito y el arseniato en compuestos metilados de toxicidad moderada como el ácido monometilarsénico (MMA⁽⁺⁵⁾) o ácido monometilarsónico (MMAA, CH₃AsO(OH)₂), el dimetilarseniato [DMA⁽⁺⁵⁾] o ácido dimetilarsínico [DAMA, (CH₃)₂AsO(OH)], el óxido de trimetilarsina (TMAO) y el ion tetrametilarsonio (TMA⁺). Estos compuestos son precursores de formas orgánicas más complejas y prácticamente no tóxicas, como los arsenolípidos, la (AsB), la arsenocolina (AsC) y los arsenozúcares (Litter et al., 2009). En los organismos marinos, el arsenozúcar más reportado es la arsenobetaína. Las arsenozúcares son normalmente encontradas en algas marinas, incluidas las especies de

consumo humano (Peregrino, 2016). La fórmula molecular de algunos de los compuestos orgánicos de arsénico se describe en la tabla 1:

Tabla 1

Compuestos de arsénico orgánico de interés medioambiental

Especie orgánica de arsénico	Fórmula química
Metilarsina	CH_3AsH_2
Dimetilarsina	$(\text{CH}_3)_2\text{AsH}$
Trimetilarsina	$(\text{CH}_3)_3\text{As}$
Ácido monometilarsénico (MMA^{V})	$\text{CH}_3\text{AsO}(\text{OH})_2$
Ácido monometilarsenioso (MMA^{III})	$\text{CH}_3\text{As}(\text{OH})_2$
Ácido dimetilarsénico (DMA^{V})	$(\text{CH}_3)_2\text{AsO}(\text{OH})$
Ácido dimetilarsenioso (DMA^{III})	$(\text{CH}_3)_2\text{AsOH}$
Óxido trimetil arsénico (TMAO)	$(\text{CH}_3)_3\text{AsO}$
Arsenobetaina (AsB)	$(\text{CH}_3)_3\text{As}^+\text{CH}_2\text{COO}^-$
Arsenocolina (AsC)	$(\text{CH}_3)\text{As}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$

Nota. Tomado de Peregrino, 2016.

2.1.5. Toxicidad del arsénico

La toxicidad del arsénico depende de su estado de oxidación, estructura química del compuesto, la solubilidad en el medio biológico, el estado físico, el tamaño de las partículas, la tasa de eliminación la tasa de absorción en las células y el estado preexistente en el paciente (Chavez, 2009). La arsina es el compuesto más tóxico, letal con una dosis directa de 250 ppm, sigue el arsénico trivalente, cuya dosis letal es inferior a 5 mg/Kg de peso corporal y el arsénico pentavalente, letal con una dosis de entre 5-50 mg/Kg de peso corporal. Para compuestos orgánicos se considera de 0,1-0,5 g/kg de peso corporal (Dirección General de Salud de las Personas, 2011).

El arsénico está en el ambiente en formas inorgánicas y orgánicas, siendo las formas inorgánicas las más tóxicas, las más frecuentes son el Arseniato ($\text{As}^{(+5)}$, H_3AsO_4) y el Arsenito (As^{+3} , H_3AsO_3), siendo la toxicidad del arsenito es 10 veces superior a la del arseniato. Las formas orgánicas, son productos finales del metabolismo de seres vivos, a éstas se les considera poco tóxicos o no tóxicos, aunque se debe resaltar dos en particular que poseen una alta toxicidad para el ser humano: el ácido monometilarsenioso y el ácido dimetilarsínico (Saborío y Higaldo, 2015).

La escala de toxicidad del arsénico decrece en el siguiente orden: Arsina (H_3As) > As^{+3} inorgánico (arsenito) > As^{+3} orgánico > As^{+5} inorgánico (arseniato) > As^{+5} orgánico > compuestos arsenicales y arsénico elemental (Pamila, 2019). La Arsenobetaina y la Arsenocolina se consideran prácticamente no tóxicas (B'Hymer y Caruso, 2004) , mientras que se plantean dudas sobre la inocuidad de los arsenoazúcares (Feldmann y Krupp, 2011).

El As^{+3} a un pH neutro entra en las células por proteínas de transporte de glicerol (acuagliceroporinas) y se une a los grupos sulfhidrilo de los residuos de cisteína en las proteínas, lo que las inactiva y lo hace altamente tóxico, a su vez altera el equilibrio hormonal del organismo uniéndose a receptores hormonales e interfiriendo con la señal de las células. El As^{+5} al tener una estructura análoga al fosfato, ingresa a las células a través del sistema de transporte del fosfato y su toxicidad radica en interferir en los procesos normales de la fosforilación oxidativa reemplazar al fosfato (Krumova et al., 2008; Santini y Vanden, 2004).

En la sangre el arseniato absorbido es reducido a arsenito, considerada la forma más tóxica del arsénico, ésta especie sufre metilación primaria en el hígado formando el ácido

monometilarsénico (MMA) y dimetilarsénico (DMA), siendo estos metabolitos orgánicos excretados con más rapidez que los arsénicos inorgánicos, esta metilación parece reducir sus efectos tóxicos agudos en muchos casos, durante mucho tiempo se consideró a este mecanismo de biotransformación como un mecanismo de eliminación, pero hay estudios con respecto a sus efectos crónicos, que señalan que las formas metiladas (MMA y DMA) también pueden ser más tóxicas que el arsénico inorgánico (Nava y Méndez, 2011; Abernathy et al., 1999).

2.1.6. Mecanismo bioquímico de acción del arsénico

Una reacción importante es la formación de enlaces covalentes del arsénico con el átomo de azufre, esto limita a que el arsénico inorgánico ingrese a las reacciones bioquímicas solo en presencia de agua; y de esta manera sus compuestos sólidos no podrán actuar en el organismo hasta no ser reducidos. El arsenito ingresa al sistema piruvato-oxidasa ligándose a los grupos sulfhidrilo de la proteína, resultando un complejo anular muy estable. El mecanismo de acción del arseniato compite con el fosfato inorgánico en las reacciones de fosforilación, produciendo ésteres inestables, desacoplado la fosforilación oxidativa compitiendo con el fósforo en uno de los pasos de conservación de energía de la reacción (Ramirez, 2013).

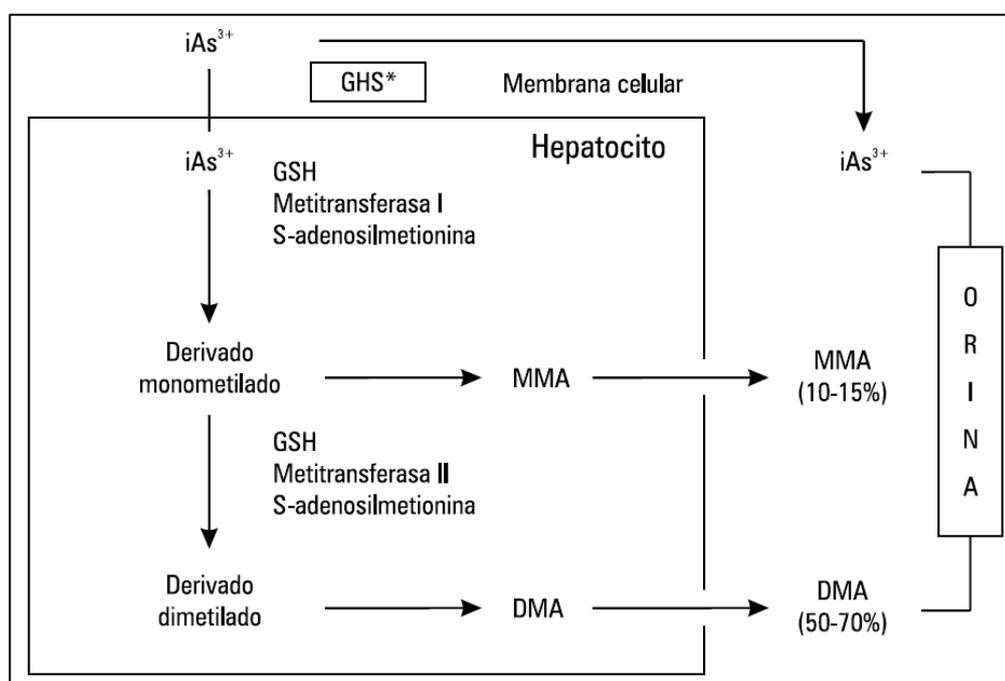
2.1.7. Biotransformación del arsénico

La biotransformación del arsénico y su capacidad de metilación varía y depende de su forma química, de la dosis, del tiempo de exposición, de una dieta rica en metionina y proteínas y de la especie expuesta. Se conoce hasta el momento que el metabolismo ocurre en el hígado con intervención de procesos secuenciales de metilación oxidativa. Así, la biotransformación del arsenito requiere de un primer paso de metilación para obtener ácido

monometilarsónico, MMA, y luego en una segunda metilación se alcanza el ácido dimetilarsónico, DMA. La S-adenosinmetionina actuaría como donador de los grupos metilo y el glutatión, un tripéptido no proteínico, como principal agente reductor y detoxificador al donar electrones y transportar al arsénico (Ramirez, 2013).

Figura 5

Biotransformación del arsénico inorgánico. GHS = Glutation Sulfhidrilotiol.*



Nota. Tomado de Ramirez, 2013

2.1.8. Procesos del arsénico dentro del organismo

2.1.8.1. Absorción. La inhalación es la vía más importante del arsénico y sus compuestos, Por esta vía su absorción está condicionada por el tamaño de las partículas, por su solubilidad y por la forma química del compuesto. En el pulmón, las partículas menores de 7µm se absorben entre 75 y 85%. La absorción por la vía digestiva de arsenito y arseniato,

disueltos en agua, llega a 95% y por la piel hay buena absorción de arsenicales húmedos, mientras los arsenicales secos solo se absorben un 2% (Ramirez, 2013).

2.1.8.2. Distribución. Después de la absorción del arsénico llega a la sangre y se une a las globulinas, dentro de las primeras 24 horas de su distribución llega a diferentes órganos, entre ellos, al hígado, pulmón, riñón y bazo, donde se acumula al unirse a los grupos sulfhidrido de las proteínas. En el tejido óseo compite con el fósforo, lo desplaza y puede permanecer allí durante años. Una pequeña cantidad atraviesa las barreras hematoencefálica y placentaria. En las siguiente 30 horas, se acumula en cabello y uñas. En secciones de cabello los niveles de arsénico acumulados indican el tiempo transcurrido desde el inicio de la exposición a este metal (Ramirez, 2013).

2.1.8.3. Excreción. La vida media del arsénico inorgánico es de 6 horas, para el MMA es 7,4 horas y para el DMA es 5,6 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 (Ramirez, 2013).

2.1.9. Biomarcadores de exposición de arsénico

Son tres los biomarcadores más utilizados para identificar o cuantificar la exposición al arsénico. La determinación de arsénico total en cabello o uñas, determinación de arsénico en sangre y determinación de metabolitos totales o especiales del arsénico en orina (Morgan, 2001).

2.1.9.1. Arsénico en cabello y uñas. Es el mejor indicador para exposiciones pasadas de arsénico, ya que éste se acumula en los tejidos ricos en queratina. Tienen la

ventaja de ser muestreados de manera fácil y no invasiva, pero pueden sufrir problemas de contaminación externa dándonos resultados erróneos (Suárez et al., 2004). Para distinguir entre el envenenamiento agudo y crónico, y a la vez estimar el tiempo transcurrido desde un incidente de envenenamiento, se puede realizar a través de la distribución de arsénico a lo largo de un cabello, debido a que se conoce la tasa de crecimiento relativo (alrededor de 1 cm por mes) (Koons y Peters, 1994). Una investigación se encontró una correlación significativa entre las concentraciones de Arsenio en las uñas y cabello (Lin et al., 1998).

2.1.9.2. Arsénico en sangre. La determinación de arsénico en sangre solo se usa como un indicador de exposición aguda reciente, solo es útil a los pocos días debido a la poca vida media que tiene el arsénico en sangre (Suárez et al., 2004). Estudios demuestran que el arsénico en la sangre no se correlaciona con exposición al arsénico en agua de bebida, especialmente en niveles bajos (Morgan, 2001).

2.1.9.3. Arsénico en orina. La determinación de As total en orina es el mejor indicador como biomarcador de exposición, ya que indica la exposición reciente (de hace pocos días) a la forma orgánica e inorgánica de arsénico. Generalmente se reportan como microgramos de arsénico por gramo de creatinina ($\mu\text{g As/g creatinina}$) esto para ajustar la concentración o dilución de la orina por una variación en la ingesta de líquidos (Pérez, 2013). En Perú, para la evaluación de arsénico a población expuesta de manera no ocupacional, la Dirección General de Salud de las Personas del Ministerio de Salud (DGSP, 2011) ha establecido un Límite de Tolerancia Biológica (LTB) de $20 \mu\text{g As/g creatinina}$.

2.1.10. Efectos en la salud humana

Con la exposición ambiental de arsénico, millones de personas en todo el mundo son afectadas por este importante problema ambiental y de salud pública de exposición al arsénico (Vásquez, y otros, 2013), según la IARC (Agencia Internacional para Investigación del Cáncer), califica al arsénico como un compuesto extremadamente venenoso y en el Grupo 1, con evidencia suficientemente comprobada causante de cáncer en humanos (Van et al., 2009).

La exposición humana al arsénico puede ocurrir por tres medios principales: inhalación de aire, por ingestión de alimentos y agua, y por absorción dérmica. Los alimentos y agua son la principal forma de exposición no ocupacional al arsénico (Medina-Pizzali et al., 2018).

La exposición a altos niveles de arsénico (As) puede causar problemas en humanos, desde síntomas gastrointestinales hasta arsenicosis (Kapaj et al., 2006), enfermedad crónica que resulta de la ingesta de agua potable con altos niveles de As durante un largo período de tiempo (Camacho et al., 2011).

La intoxicación por arsénico puede ocurrir en dos formas: intoxicación aguda, la cual es consecuencia de la absorción de alto contenido de arsénico en un tiempo corto; los primeros síntomas son: vómito profuso, diarrea, cólicos, salivación excesiva, fiebre, alteraciones en el sistema cardiovascular y sistema nervioso central. Por otro lado, la intoxicación crónica, resultado de la absorción de pequeñas cantidades de arsénico en un tiempo prolongado (DGSP, 2011), el resultado en los dos casos puede ser letal (Pamila, 2019).

La exposición crónica al arsénico aumenta los riesgos para la salud que van desde varias enfermedades cancerosas y no cancerosas; la conjuntivitis, lesiones cutáneas, cánceres internos a diabetes y enfermedades cardiovasculares, efectos reproductivos y neurológicos (Van et al., 2009; Vásquez et al., 2013).

2.1.11. Validación

Según la Organización Internacional de Normalización 9000, traducido del inglés International Organization for Standardization 9000 (ISO 9000:2015), es la confirmación, a través de la aportación de evidencia objetiva, de que se han cumplido los requisitos para un uso o aplicación específico previsto. Validar un método es principalmente un proceso para establecer un requerimiento analítico, y la comprobación que cuenta con competencia consistentes con las aplicaciones requeridas (EURACHEM, 2016).

2.1.12. Tipos de validación.

2.1.12.1. Validación Prospectiva. Se aplica cuando la verificación del cumplimiento de las condiciones establecidas a un método analítico o proceso, se efectúan antes de la comercialización del producto. Es usado en laboratorios de investigación y desarrollo, se realiza acorde a un protocolo planificado y comprende el estudio de todos los criterios necesarios para evidenciar el buen funcionamiento del método (Palomino Cruz, 2017).

2.1.12.2. Validación Retrospectiva. Se aplica cuando la capacidad del método analítico o proceso se fundamenta en la garantía constatada a través de datos analíticos del

producto ya comercializado. Este tipo de validación se realiza a métodos no validados previamente y de los que se tiene un historial amplio de resultados (Palomino Cruz, 2017).

2.1.12.3. Revalidación. Un cambio en el método analítico o proceso puede afectar la capacidad establecida por la validación, lo cual exige una nueva validación o revalidación de dicho método analítico o proceso. Entre los cambios considerados importantes tenemos, los cambios en las especificaciones, en la matriz del producto, en el método analítico (Palomino Cruz, 2017).

2.1.13. Validación de ensayos fisicoquímicos.

La validación da al laboratorio y sus empleados una mayor confianza, seguridad en el método analítico o proceso y en la calidad de sus resultados (EURACHEM, 2016). Permite un conocimiento del método, así como sus características de funcionamiento, lo cual se traduce en disminución de número de fallas y repeticiones, teniendo un control de los puntos críticos del ensayo y así prevenir y evitar resultados erróneos que afecten la calidad el análisis (Palomino Cruz, 2017).

Los ensayos deben ser validados cuando son ensayos no normalizados, existen ensayos propios que se diseñan o desarrollan, ensayos normalizados fuera del alcance previsto, así como ampliaciones y/o modificaciones. Cuando se realizan cambios a un ensayo validado, se debe determinar la influencia que causan esos cambios, y cuanto afecten la validación inicial, para ello se realiza una nueva validación del ensayo (ISO 17025:2017).

2.1.14. Parámetros de validación de métodos analíticos

Las características de desempeño del método analítico se expresan en función de los siguientes parámetros analíticos:

2.1.14.1. Linealidad. Es la relación entre la concentración de analito y respuesta del método. Esta relación, denominada comúnmente curva patrón o curva de calibración. Define la capacidad del método para obtener los resultados de la prueba proporcionales a la concentración del analito (EURACHEM, 2016).

2.1.14.2. Sensibilidad analítica. Es el cambio en la respuesta de un instrumento de medida dividido por el cambio correspondiente en el estímulo (ICH, 2006).

2.1.14.3. Veracidad. Grado de concordancia existente entre el valor medio obtenido de una gran serie de resultados y un valor aceptado como referencia (ISO 5725-1:1994).

2.1.14.4. Precisión. Grado de coincidencia existente entre los resultados independientes de un ensayo, obtenidos en condiciones estipuladas (ISO 5725-1:1994).

A. Repetibilidad. Estudia la variabilidad de los resultados cuando la medición se lleva a cabo por un solo analista utilizando el mismo equipo en un corto plazo de tiempo (EURACHEM, 2016).

2.1.14.5. Exactitud. Expresa la proximidad de un único resultado a un valor de referencia. La validación de métodos trata de investigar la exactitud de los resultados

evaluando los efectos sistemáticos y aleatorios sobre resultados individuales. Por lo tanto, normalmente la exactitud se estudia como dos componentes: ‘veracidad’ y ‘precisión’ (EURACHEM, 2016).

2.1.14.6. Límite detección del método (LDM). Es la menor cantidad de un analito en una muestra la cual puede ser detectada pero no necesariamente cuantificada con un valor exacto (EURACHEM, 2016).

2.1.14.7. Límite de cuantificación del método (LCM). Es la concentración mínima que puede determinarse con un nivel aceptable de exactitud (EURACHEM, 2016).

2.1.14.8. Rango de trabajo.

Es el intervalo entre la más alta y más baja concentración del analito de la muestra, para la cual se ha demostrado que el método analítico tiene un nivel apropiado de precisión, veracidad y linealidad (ICH, 2006).

2.1.14.9. Robustez.

Medida de la capacidad de un procedimiento analítico para permanecer no afectado por pequeñas variaciones premeditadas de los parámetros del método. La robustez proporciona una indicación de la fiabilidad del método durante su uso normal (EURACHEM, 2016).

2.1.15. Fundamento del ensayo determinación de especies inorgánicas de arsénico con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica.

El ensayo separa las especies inorgánicas de arsénico con una resina de intercambio aniónico, las muestras son filtradas, acidificadas y pasadas a través de la resina previamente convertida a forma acetato. El arseniato (As^{+5}) es retenido en la resina y el arsenito (As^{+3}) es eluido pasando una concentración de HCl a través de la columna, las muestras son colectadas en porciones y cada porción es analizada por generación de hidruros- absorción atómica (Chavez, 2009).

El principio de esta técnica es el intercambio iónico de los grupos acetato por los grupos arseniato (AsO_4^{-3}), el intercambio se lleva a cabo por la especie arseniato que se encuentra cargado con iones arseniato (AsO_4^{-3}), mientras que el arsenito se mantiene neutro como ácido arsenioso (H_3AsO_3), pasa a través de la resina sin sufrir retención, y finalmente el arsénico retenido se eluye con a un ácido fuerte (Chavez, 2009).

Finalmente se aplica la determinación de arsénico por conversión de sus hidruros y el transporte hacia la absorción atómica. Esta determinación de arsénico por absorción atómica requiere que todos los compuestos de arsénico inorgánico estén en estado As^{+3} .

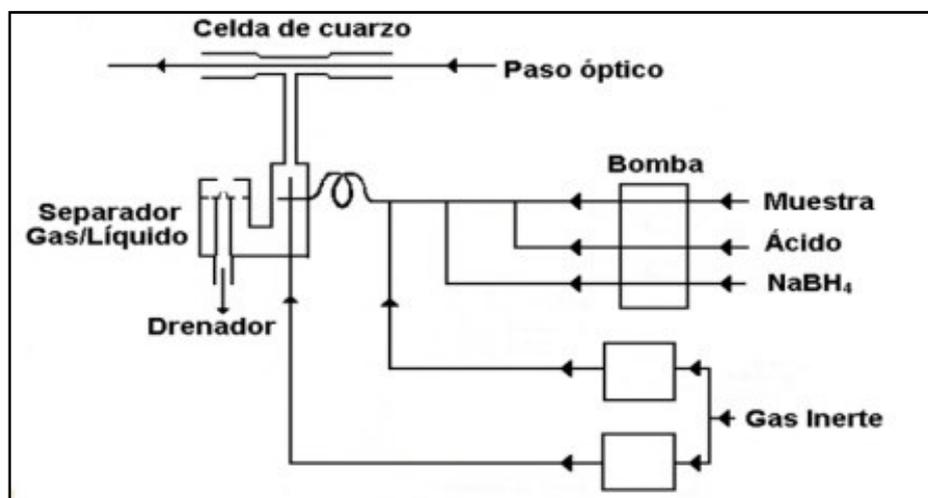
La pre-reducción con solución de ácido ascórbico y yoduro de potasio genera el ácido arsenioso, que posee un estado de oxidación de As^{+3} , éste es convertido de forma rápida el borohidruro de sodio de solución ácida a sus hidruros volátiles (APHA-AWWA-WEF, 2017). Un gas inerte (argón o nitrógeno) purgan los hidruros de manera continua hacia

una celda de cuarzo previamente calentada eléctricamente o por la flama del espectrofotómetro de absorción atómica, y convirtiendo los átomos a fase gaseosa.

El borohidruro de sodio (agente reductor) genera rápidamente los hidruros elementales en una apropiada celda de reacción, reduce al mínimo las diluciones del hidruro por el gas portador y proporciona determinaciones rápidas y sensibles de arsénico. A temperatura ambiente y la solución con valor de pH 1 o menor, el estado de oxidación de $As^{(+5)}$, se reduce lentamente por el borohidruro de sodio a As^{+3} , que instantáneamente se convierte a arsina.

Figura 6

Diagrama esquemático del generador de hidruros.



2.1.16. Fundamento del ensayo determinación de especies inorgánicas de arsénico con cromatografía iónica

La cromatografía iónica se fundamenta en la diferencia de afinidades de los iones por la fase móvil y la fase estacionaria del sistema cromatográfico (Rivera, 2007). De diversos esquemas usados de separación y detección, el más usado es la separación de intercambio iónico combinado con detección conductimétrica (Díaz, 2018).

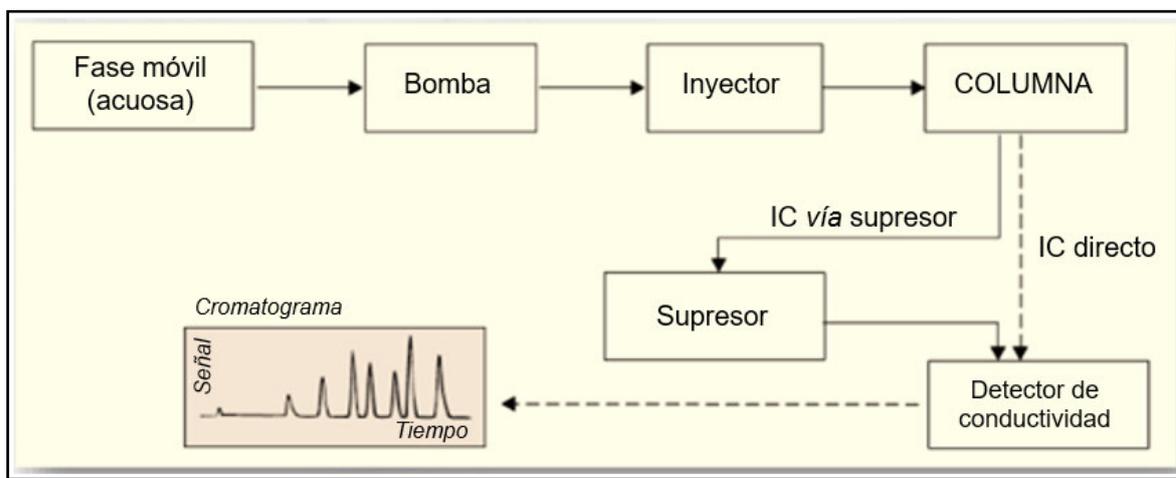
Un intercambiador iónico de baja capacidad separa los componentes de la muestra y se detectan directamente por conductimetría, empleando una fase móvil de baja conductividad electrolítica y con conductancia iónica que difiere significativamente de la de los iones de la muestra, permitiendo la detección de los iones de analito que aumentan selectivamente con supresión electrónica de la señal de la conductividad de la fase móvil (Díaz, 2018).

La conductividad de la solución es proporcional a la concentración iónica, esto permite identificar cada anión en base a su tiempo de retención y cuantificarlo relacionando el área del pico de la muestra con el área del pico de un estándar. La temperatura afecta directamente la conductividad de una solución, debido a esto, los cambios de temperatura ejercen una oscilación regular en la línea base, afectando la reproducibilidad y la linealidad de la determinación. Los efectos de las variaciones en la temperatura son reducidos por la supresión de la conductividad eléctrica (Rivera, 2007).

Con el Cromatógrafo de Iones Dionex ICS-2100 y la Columna IonPac AS18 de 4mm se puede separar, detectar, identificar y cuantificar las especies de arseniato As (V) presentes en soluciones acuosas con un tiempo de retención de 18.3 minutos.

Figura 7

Diagrama esquemático del cromatógrafo iónico.



III. MÉTODOS

3.1. Tipo de investigación

La presente investigación tiene un diseño experimental, es aplicada, con enfoque cuantitativo.

3.2. Ámbito temporal y espacial

La investigación se inició en el año 2020 hasta inicios del año 2021.

3.3. Variables

3.3.1. *Variables Independientes*

- Concentración de arsénico total en solución acuosa.
- Concentración de especies de arsénico en solución acuosa.
- Resultados de los parámetros de validación estadísticos (Linealidad, Sensibilidad, Veracidad, Precisión, Limite de detección y Límite de cuantificación.)

3.3.2. *Variables dependientes*

- Criterios de evaluación de los ensayos: Tiempo de análisis.

3.4. Población y muestra

- Población: Agua tipo II (agua desionizada) fortificada con especies de arsénico inorgánico.
- Muestra: Agua tipo II (agua desionizada) fortificada con especies de arsénico inorgánico; arsenito (As^{+3}) y arseniato (As^{+5}).

3.5. Instrumentos

3.5.1. *Reactivos*

- Agua desionizada y ultrapura
- Ácido clorhídrico concentrado (37%)
- Yoduro de potasio
- Ácido ascórbico
- Borohidruro de Sodio
- Hidróxido de sodio
- Ácido acético
- Resina de intercambio iónico (Dowex Marathon A, Chloride form)

3.5.2. *Materiales*

- Bureta de 25 ml
- Tubos cónicos de 15ml y 50ml

- Matraz aforado de clase A de 50, 100, 500 y 1000ml
- Micropipeta de 5 - 50 μ L
- Micropipeta de 100 - 1000 μ l
- Micropipeta de 0,5ml – 5,0ml
- Filtro de jeringa con membrana de 0.2 μ m

3.5.3. *Equipos*

- Espectrofotómetro de absorción atómica (EAA), modelo Analyst 400
- Sistema de inyección de Flujo, modelo FIAS 100
- Balanza analítica
- Campana extractora de vapores ácidos
- Cromatógrafo Iónico Dionex ICS-2100
- Columna IonPac AS18 de 4mm
- Guarda columna IonPac AG18 de 4mm

3.5.4. *Estándares de referencia*

- Arsénico, solución patrón, Lote: HC02068273
- Estándar de arsénico ICP, Lote: HC98238703
- Estándar de arsénico +3, Lote: P2-AS3680325

3.6. Procedimientos

3.6.1. *Ensayo determinación de especies inorgánicas de arsénico con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica.*

3.6.1.1. Preparación de la columna. Se utiliza una columna de vidrio (10cm x 7mm) para las separaciones, se empaqueta 2,3g aproximadamente de resina aniónica. La resina se empaqueta en forma cloruro y requiere conversión a forma acetato. Se pasa 3ml de NaOH 1M a través de la resina, seguido por 15ml de agua desionizada, luego 5ml de ácido acético 1M. Se enjuaga la resina con 10ml de agua desionizada y se agrega una cantidad de agua para mantener la resina húmeda.

3.6.1.2. Preparación de la muestra. Para la preparación del estándar de trabajo, se toman 50ml de estándar y fueron filtradas a través de una membrana de 0.45 μm y luego acidificadas con 0.5ml de ácido clorhídrico concentrado. 5ml de muestra acidificada se pasan a través de la resina en la columna aniónica de forma acetato, seguido por 20ml de 0.12M de ácido clorhídrico como eluyente, agregado en 4 porciones separadas de 5ml. Las fracciones sucesivas de 5ml (una de la muestra, y cuatro del eluyente) fueron colectadas en tubos. El As (+3) de la muestra está en las dos primeras fracciones y el As (+5) en las tres últimas.

3.6.1.3. Pre-reducción del arsénico. Se colocan las muestras (5ml) en tubos cónicos de 15ml. Se agrega a cada tubo 1ml de la solución de pre-reducción (Solución de ácido ascórbico 5% y Ioduro de potasio 5%) y 1ml de ácido clorhídrico concentrado. Dejar

en reposo las muestras durante 45 a 60 minutos a temperatura ambiente. Finalmente agregar enrazar el tubo a 10ml con agua desionizada, agitar y analizarlas por generación de hidruros (GH) acoplada a la espectrometría de absorción atómica (EAA).

3.6.1.4. Lectura de las muestras en el sistema. Colocar los estándares de calibración, las muestras y los controles. Las condiciones del sistema son las siguientes:

Temperatura de la celda	: 900°C
Flujo de gas de arrastre (argón)	: 70 ml/min – 100 ml/min
Flujo de la solución de HCl 10%	: 9 ml/min – 11 ml/min
Flujo de la solución reductora NaBH ₄ /NaOH	: 4 ml/min – 7 ml/min

La lámpara debe estar encendida unos 60 minutos antes para que se caliente y se estabilice.

La verificación instrumental se realiza con un estándar de 10µg/L.

3.6.1.5. Cálculos. Para los resultados del ensayo el arsénico es expresado en microgramos por litro (µg/L). Se determina utilizando la siguiente fórmula matemática:

$$\text{As}(\mu\text{g/L}) = A \times \frac{B}{C}$$

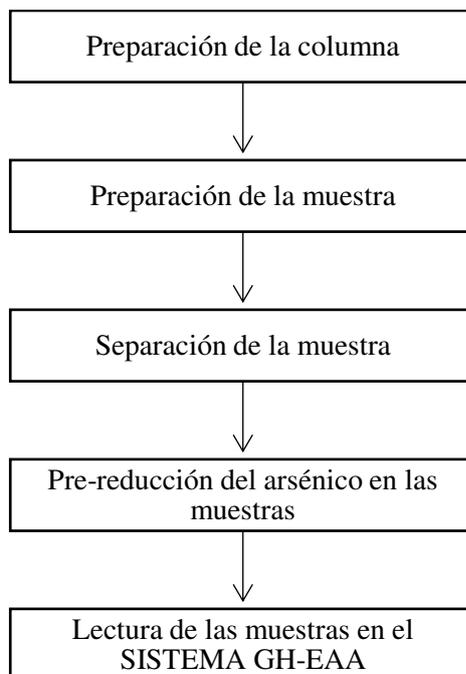
Donde:

A: Cantidad de arsénico obtenida en la lectura del equipo de AA (µg/L)

B: Volumen final de enrase, en ml

C: Volumen de muestra tomada, en ml

3.6.1.6. Flujograma del ensayo determinación de especies inorgánicas de arsénico con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica.



3.6.2. Ensayo determinación de especies inorgánicas de arsénico con cromatografía iónica.

3.6.2.1. Verificación del equipo y tiempos de retención. Para la verificación del equipo se coloca en el compartimiento del automuestreador un vial con agua desionizada, este es inyectado para verificar que el sistema no este contaminado. Para la verificación del tiempo de retención del anión, se coloca un vial con solución estándar de una concentración de $500\mu/L$.

3.6.2.2. Preparación de las muestras. Los estándares de trabajo líquidas son filtrados a través de un filtro de jeringa con membrana de 0.2 μ m, el volumen mínimo requerido es de 5ml. Son colocadas e identificadas dentro del compartimiento del automuestreador. Se utiliza la conductividad eléctrica de las muestras para verificar que se encuentren dentro del rango de trabajo, si fuese necesario las muestras se diluyen para que las columnas de separación evitan cargarse excesivamente.

3.6.2.3. Preparación del equipo y corrida de muestras. Se trabaja con las condiciones cromatográficas de la Tabla 2.

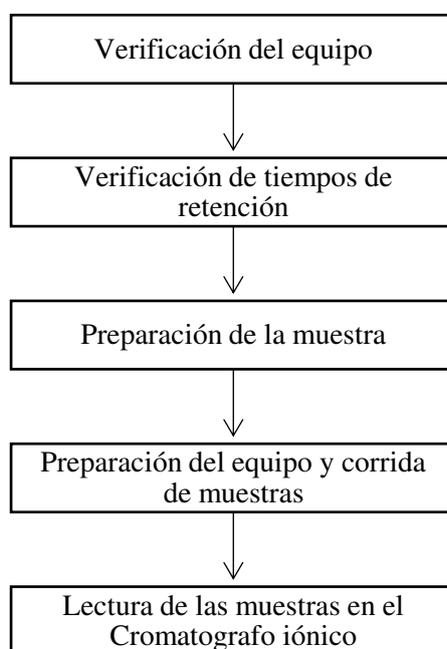
Tabla 2

Condiciones cromatográficas.

Sistema	DIONEX ICS-2100
Volumen de inyección	20 μ L de muestra
Columna	Separador AS18 de 4mm y protector AG18 de 4mm
Temperatura de Columna	30°C
Concentrador	UTAC-LP1
Eluyente	Gradiente de KOH 23mM mantener hasta final, 23 min.
Fuente de eluyente	EluGen® II KOH cartucho en EGC-1
Velocidad de flujo de eluyente	1.0 mL / min
Detección	Conductividad suprimida (temperatura de celda de 35°C)
Supresor	ASRS® 300, 4 mm; operado a 57 mA
Agua electrolítica Purificador	20A de la potencia auxiliar ICS-2100

3.6.2.4. Cálculos. El Cromatógrafo Iónico DIONEX ICS-2100, construye la curva de calibración y reporta directamente el resultado de arseniato en microgramos por litro ($\mu\text{g/L}$) presentes en la muestra. Si fuese necesario se multiplica por el factor de dilución de la muestra. Se muestran gráficas de resultados de los cromatogramas obtenidos del software Chromeleon en los anexos A, B, C, D y E.

3.6.2.5. Flujograma del ensayo determinación de especies inorgánicas de arsénico con cromatografía iónica.



3.6.3. Aplicación exploratoria de ensayo determinación de especies inorgánicas de arsénico en agua de uso y consumo humano.

El Instituto Geológico Minero y Metalúrgico (Chira et al., 2011) publica el boletín “Geoquímica Ambiental de la Cuenca del Río Pisco” el cual describe que la contaminación

por arsénico en las Cuencas alta, media y baja de la Cuenca del Río Pisco exceden el valor referencial (0.010 mg/L) para consumo humano.

La aplicación exploratoria del ensayo de determinación de especies inorgánicas de arsénico se realizó en el reservorio de agua destinado para uso y consumo humano del Centro Poblado Montesierpe ubicado en el distrito de Humay, Provincia de Pisco, en la región de Ica.

La muestra se recogió en unas botellas de plástico limpias para realizar el análisis de arsénico total y el análisis de especies de arsénico inorgánico. Para el análisis de arsénico total; las muestras al ser incoloras y transparentes, con una turbidez de <1 NTU, sin olor y de fase única se analiza directamente por generación de hidruros (GH) acoplado a espectrometría de absorción atómica (EAA) sin digestión. Y posteriormente, para el análisis de especies de arsénico inorgánico el procedimiento mediante resina de intercambio iónico.

3.7. Análisis de datos - Desarrollo de los parámetros de validación

3.7.1. Linealidad.

Se prepararon 5 estándares de calibración para los dos diferentes ensayos; para el ensayo de determinación de especies inorgánicas de arsénico con resina de intercambio iónico el rango de 0.001 a 0.020 mg/L, y para el ensayo de determinación de especies inorgánicas de arsénico con cromatografía iónica el rango de 0.001 a 0.020 mg/L, en ambos casos se usa el estándar de arsénico total. Se preparó la curva de calibración por tres días, y se midió; en la tabla 3 y tabla 14 se muestran las relaciones de las absorbancias con la

concentración del estándar para la determinación de especies inorgánicas de arsénico: ensayo con resina de intercambio iónico y ensayo por cromatografía iónica.

Demostramos que haya correlación entre la respuesta del equipo (y) y la concentración (x) con el coeficiente de correlación $r(x,y) \geq 0.90$, la relación lineal con el análisis de varianza de la regresión; donde $p < 0.05$ y los residuos de la regresión libre de tendencia, es decir que tengan distribución normal.

3.7.2. *Sensibilidad analítica.*

La sensibilidad es cuantificada mediante el coeficiente de sensibilidad que es determinado de la siguiente manera:

$$\text{Sensibilidad} = \frac{\partial \text{Respuesta}}{\partial \text{Concentración}} = \frac{\partial y}{\partial x}$$

$$\frac{\partial y}{\partial x} = K, \quad K = \text{cte.}$$

$$\int \partial y = \int K \partial x$$

$$y = K_0 + Kx \leftrightarrow y = a + bx$$

$$\therefore K = b$$

Siendo el coeficiente de sensibilidad la pendiente de la recta de calibración (b).

3.7.3. *Veracidad.*

Se trabajó con estándares de referencia (Anexo F y G), con certificado de calidad que indica el valor nominal de la solución estándar, se realizan 10 corridas del punto a evaluar.

- La comparación del valor de referencia (MRC) con el valor de tendencia central; si los datos tienen distribución normal se compara el promedio de las muestras y se usa la Prueba T-Student y si los datos tienen distribución no normal, se compara la mediana de las muestras y se usa la Prueba de Wilcoxon.
- Índice Z (z Score): Se valida el desempeño del laboratorio con el valor de referencia (MRC).

$$Z = \left| \frac{(\bar{X}_{\text{lab}} - X_v)}{s} \right|$$

Donde:

\bar{X}_{lab} : Valor medio obtenido de las lecturas

X_v : Valor verdadero

s : Desviación estándar de las lecturas

La evaluación se puede realizar de acuerdo con la siguiente escala de puntuación:

$|Z| \leq 2 =$ Satisfactorio

$2 < |Z| \leq 3 =$ Cuestionable

$|Z| > 3 =$ Insatisfactorio

3.7.4. Precisión

3.7.4.1. Repetibilidad. Para la repetibilidad se evaluó la desviación estándar relativa experimental vs la desviación estándar relativa teórica. Se trabajó una concentración conocida, donde se analizó 10 veces en 3 días diferentes. Se calculó la desviación estándar relativa experimental ($RSD_{\text{exp.}}$) para el nivel de concentración. El $RSD_{\text{exp.}}$ se calculó con el

cociente de la desviación estándar (s) entre el promedio (\bar{X}), multiplicado por 100, como la siguiente fórmula:

$$RSD_{\text{exp.}} = \frac{S}{\bar{X}} \times 100$$

La desviación estándar relativa teórica, se calculó a partir del RSD_{Horwitz} , con la siguiente fórmula:

$$RSD_{\text{teórica}} = RSD_{\text{Horwitz}} = 2^{1-0.5 \log(\text{concentración})}$$

Y es preciso si:

$$RSD_{\text{experimental}} \leq \left(\frac{2}{3}\right) \times RSD_{\text{Horwitz}}$$

Y finalmente para la prueba estadística se calculó la Desviación Estándar teórica (S_T), a partir del RSD_{Horwitz} , multiplicando la concentración y dividido entre 100;

$$S_T = \frac{RSD_{\text{Horwitz}} \times C}{100}$$

Si los datos tienen distribución normal, la prueba a usar es Chi-cuadrado, si los datos tienen distribución no normal se usa la Prueba de Bonett, donde $p > 0.05$.

3.7.5. Límite de detección del método (LDM).

Se prepararon 7 muestras de blancos de muestra con una adición de concentración de analito más baja aceptable (1.0 $\mu\text{g/L}$) y se analizaron por absorción atómica con generación de hidruros; se estimó el promedio y la desviación estándar de los blancos, con estos datos se determina el límite de control superior de la variación aleatoria que es el límite de detección del método, con la siguiente ecuación:

$$LDM = t_{(n-1, \alpha)} \times S_{\text{Muestras}}$$

Donde:

LDM	: Límite de detección del método
$t_{(n-1,\alpha)}$: Valor t-student de tabla, para un nivel de confianza al 99%
S_{Muestras}	: Desviación estándar de muestras

3.7.6. Límite de cuantificación del método (LCM).

También denominado límite de determinación. Se determina multiplicando una constante con la desviación estándar de los valores de las muestras utilizadas en el límite de detección. El mínimo valor se analiza 10 veces por absorción atómica con generación de hidruros y se demuestra exactitud (precisión y veracidad). El límite de cuantificación se calcula de la siguiente manera:

$$\text{LCM} = K \times S_B \quad \rightarrow \quad 5 \leq K \leq 10$$

$$\text{LCM} \rightarrow [5 \times S_B, 10 \times S_B]$$

3.7.7. Rango de trabajo.

Desde el LCM (Límite de cuantificación del método), hasta la máxima concentración donde demuestra veracidad y precisión.

3.7.8. Robustez.

Se identificaron las variables que puedan tener un efecto significativo en el desarrollo del método y se determina el efecto de cada cambio sobre el método a validar. Se utilizan los criterios estadísticos de la prueba de Youden-Steiner para los resultados obtenidos en el análisis.

Se aplicó este parámetro de validación para el ensayo de determinación de especies inorgánicas de arsénico con resina de intercambio iónico, determinamos las siguientes variables:

- Acidificación de la muestra con ácido clorhídrico concentrado(0.5 ml / 1 ml)
- Volumen de Yoduro de Potasio (1 ml / 2.5 ml)
- Volumen de ácido clorhídrico concentrado (1 ml / 2.5 ml)
- Reposo de la muestra (45 minutos / 60 minutos)

Los efectos de los factores se calculan de la siguiente manera:

$$Efecto_A = |A - a| \quad Efecto_C = |C - c|$$

$$Efecto_B = |B - b| \quad Efecto_D = |D - d|$$

Donde:

$$A = \frac{R_1 + R_2 + R_3 + R_4}{4} \quad a = \frac{R_5 + R_6 + R_7 + R_8}{4}$$

$$B = \frac{R_1 + R_2 + R_5 + R_6}{4} \quad b = \frac{R_3 + R_4 + R_7 + R_8}{4}$$

$$C = \frac{R_1 + R_3 + R_5 + R_7}{4} \quad c = \frac{R_2 + R_4 + R_6 + R_8}{4}$$

$$D = \frac{R_1 + R_2 + R_7 + R_8}{4} \quad d = \frac{R_3 + R_4 + R_5 + R_6}{4}$$

$$Efecto_x \leq 2.24S$$

La condición de robustez se determina para cada efecto, si el resultado es menor o igual a 2.24S, el efecto no es significativo, por lo tanto, el método será robusto para tal efecto.

IV. RESULTADOS

4.1. Respecto a la validación del ensayo para determinación de especies de arsénico inorgánico con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica.

A continuación, se detallan los resultados obtenidos para cada parámetro de validación.

4.1.1. Linealidad.

Los resultados obtenidos respecto al parámetro linealidad se detallan en la tabla 3, la cual presenta los valores obtenidos para las curvas de calibración correspondientes a las figuras 8, 9 y 10, el procedimiento del parámetro linealidad se especificó en el ítem 3.6.3.1.

Tabla 3

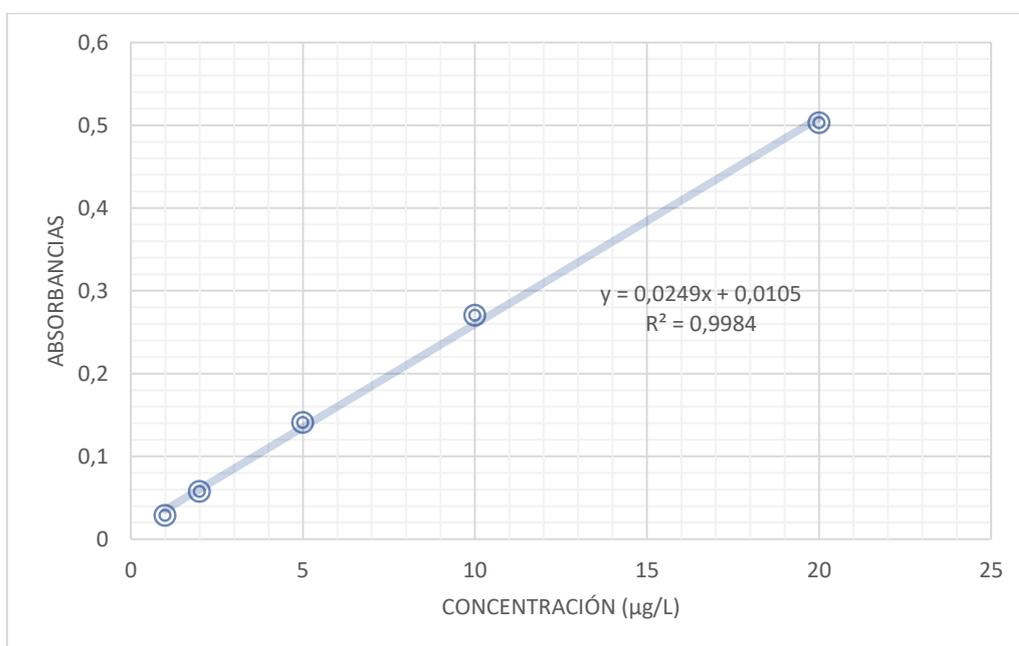
Resultados de concentración y absorbancia para el parámetro linealidad del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica

Día	Concentración del estándar de As ($\mu\text{g/L}$)	Absorbancia
1	1	0.02842635
	2	0.05746630
	5	0.14051059
	10	0.27020156
	20	0.50288860
2	1	0.03066487
	2	0.06110969
	5	0.13805527

	10	0.27382867
	20	0.49847207
3	1	0.02822037
	2	0.05686019
	5	0.13987224
	10	0.27374489
	20	0.51930638

Figura 8

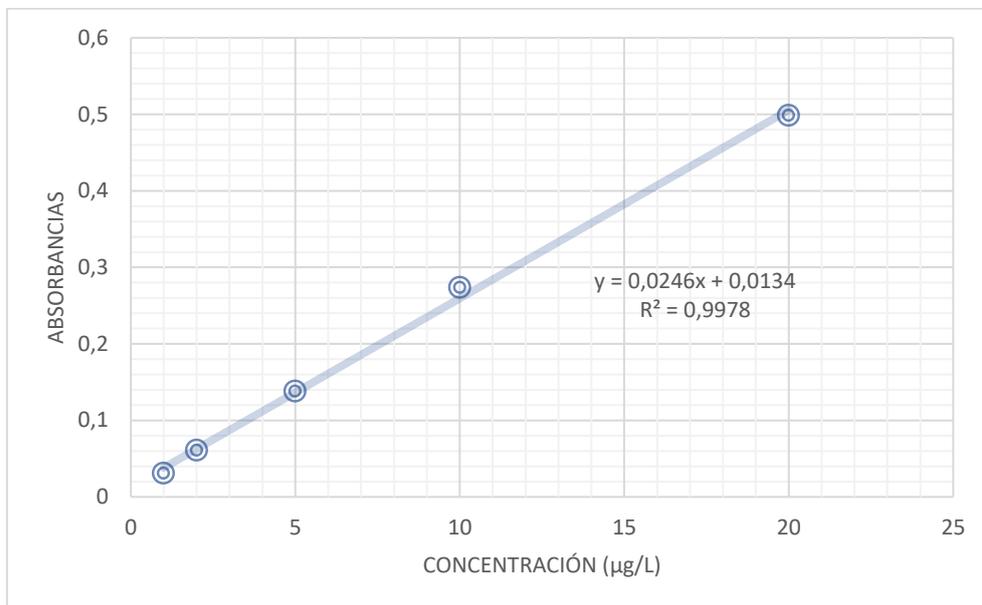
Primera curva de calibración de As, por generación de hidruros(GH)-espectrometría de absorción atómica(EAA)



Nota. Tomado de Software de hoja de cálculo de Microsoft Excel.

Figura 9

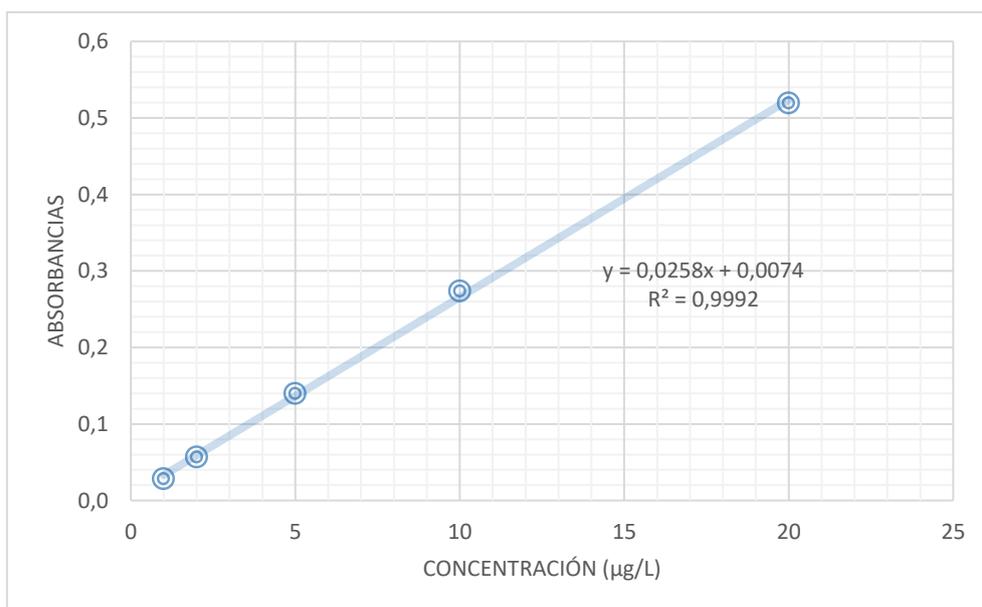
Segunda curva de calibración de As, por generación de hidruros(GH)-espectrometría de absorción atómica(EAA)



Nota. Tomado de Software de hoja de cálculo de Microsoft Excel.

Figura 10

Tercera curva de calibración de As, por generación de hidruros(GH)-espectrometría de absorción atómica(EAA)

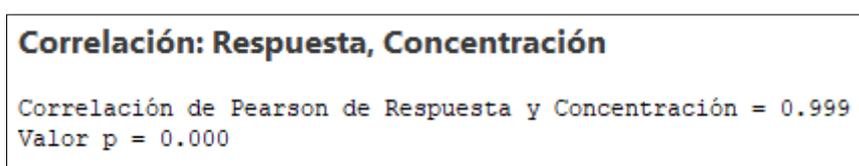


Nota. Tomado de Software de hoja de cálculo de Microsoft Excel.

4.1.1.1. Correlación entre la respuesta del equipo y la concentración. Este resultado lo obtenemos del software estadístico de Minitab, donde obtenemos el valor p (figura 11) y el valor del R-cuadrado (ajustado) (tabla 4) que es equivalente al coeficiente de determinación, del cual obtenemos el coeficiente de correlación, y la dispersión de los datos de respuesta y concentración graficados en la figura 12.

Figura 11

Correlación entre Respuesta y Concentración



Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

Tabla 4

Resumen de regresión lineal del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coeficiente de correlación múltiple	0.999006492
Coeficiente de determinación R ²	0.998013971
R ² ajustado	0.997861199
Error típico	0.00835821
Observaciones	15

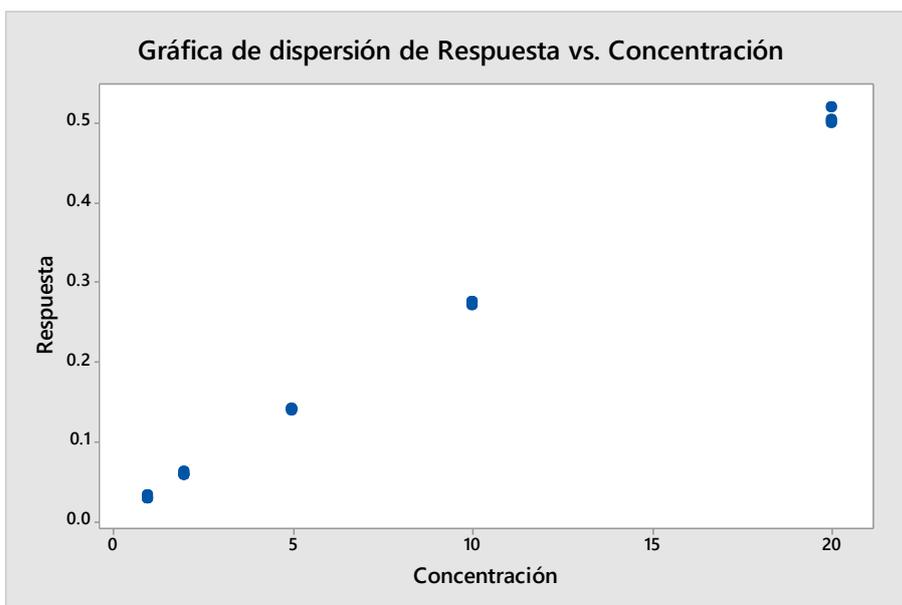
Nota. Tomado de Software de hoja de cálculo de Microsoft Excel.

$$r^2 = 0.9979$$

$$r = 0.9989$$

Figura 12

Gráfica de dispersión de la Absorbancia vs Concentración del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica



Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

4.1.1.2. Relación lineal con el análisis de varianza de la regresión. Este resultado se obtiene del software estadístico de Minitab, obteniendo el Valor p (figura 13).

Figura 13

Análisis de regresión: Respuesta vs. Concentración

Análisis de regresión: Respuesta vs. Concentración					
Análisis de Varianza					
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Regresión	1	0.456374	0.456374	6532.72	0.000
Concentración	1	0.456374	0.456374	6532.72	0.000
Error	13	0.000908	0.000070		
Falta de ajuste	3	0.000641	0.000214	8.00	0.005
Error puro	10	0.000267	0.000027		
Total	14	0.457282			

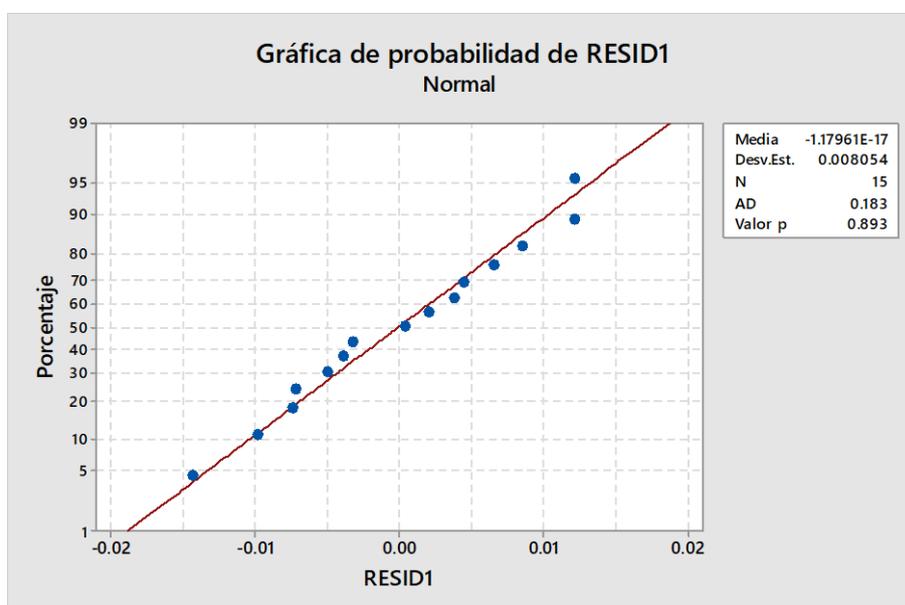
Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

p < 0.05

4.1.1.3. Evaluación de los residuos. Los resultados de los residuos se obtienen en el software de hoja de cálculo de Microsoft Excel, usando la opción Regresión en Análisis de datos los cuales deben estar libre de tendencia como se demuestra en la gráfica de Normalidad (figura 14).

Figura 14

Gráfica de normalidad de los residuos del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica



Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

4.1.2. Sensibilidad analítica.

Los resultados de sensibilidad de detallan en la tabla 5, por medio del análisis de varianza obtenido en el programa software de hoja de cálculo de Microsoft Excel, nos muestra el valor de la pendiente (Variable X 1) y los rangos de aceptación para ésta.

Tabla 5

Análisis de varianza del ensayo con resina de intercambio iónico

Análisis de varianza

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>		
Regresión	1	0.456374031	0.456374031		
Residuos	13	0.000908176	6.98597E-05		
Total	14	0.457282207			
	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>		
Intercepción	0.010444205	0.00319902	3.264813968		
Variable X 1	0.025113728	0.000310716	80.82526973		
	<i>Valor crítico de F</i>				
	<i>F</i>	<i>F</i>			
Regresión	6532.724227	5.94163E-19			
	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95.0%</i>	<i>Superior 95.0%</i>
Intercepción	0.006150355	0.003533143	0.017355268	0.003533143	0.017355268
Variable X 1	5.94163E-19	0.024442466	0.02578499	0.024442466	0.02578499

Nota. Tomado de Software de hoja de cálculo de Microsoft Excel.

Ecuación de regresión

$$\text{Respuesta} = 0.01044 + 0.025114 \text{ Concentración}$$

Rangos de aceptación para pendiente (b):

$$b \in [0.0244; 0.0258]$$

4.1.3. Veracidad para arsenito (As^{+3})

Los resultados de veracidad para arsenito se detallan en la tabla 6, el valor de concentración referencial de As^{+3} del MRC es $5\mu\text{g/L}$, la evaluación de datos atípicos se realiza en el software estadístico de Minitab (figura 15 y 16), donde no presenta datos atípicos.

Tabla 6

Resultados obtenidos de valores de As^{+3} del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica

Nro. de lecturas	Concentración ($\mu\text{g/L}$)
1	4.94217
2	4.96197
3	5.14188
4	4.61365
5	5.07459
6	4.76479
7	5.32694
8	4.91486
9	5.45675
10	4.74655

Figura 15

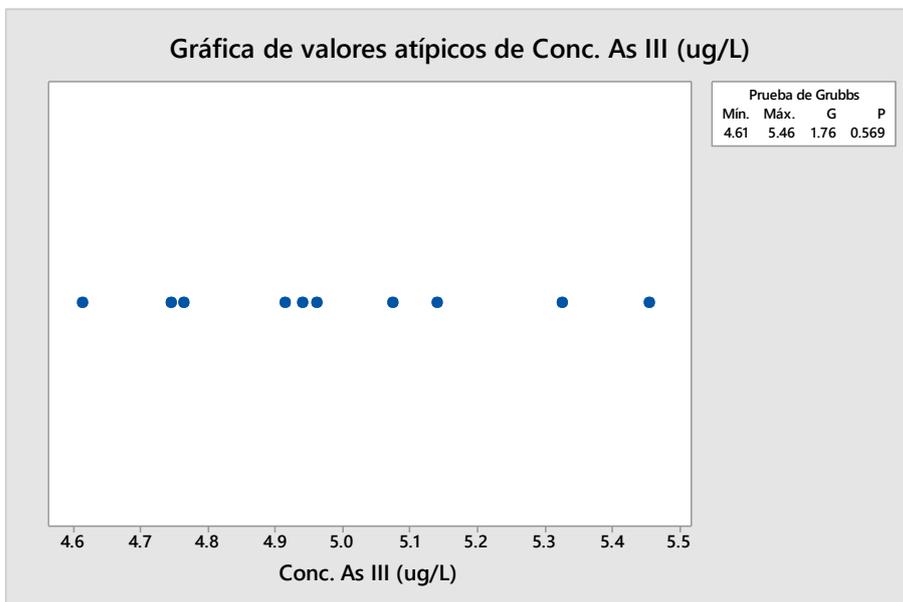
Prueba de valores atípicos para valores de As^{+3} del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica

Prueba de valores atípicos: Conc. As III (ug/L)							
Método							
Hipótesis nula	Todos los valores de los datos provienen de la misma población normal						
Hipótesis alterna	El valor más pequeño o más grande de los datos es un valor atípico						
Nivel de significancia	$\alpha = 0.05$						
Prueba de Grubbs							
Variable	N	Media	Desv.Est.	Min.	Máx.	G	P
Conc. As III (ug/L)	10	4.9944	0.2628	4.6136	5.4568	1.76	0.569
* NOTA * No hay valor atípico en el nivel de significancia de 5%							

Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

Figura 16

Gráfica de valores atípicos para valores de As^{+3} del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica



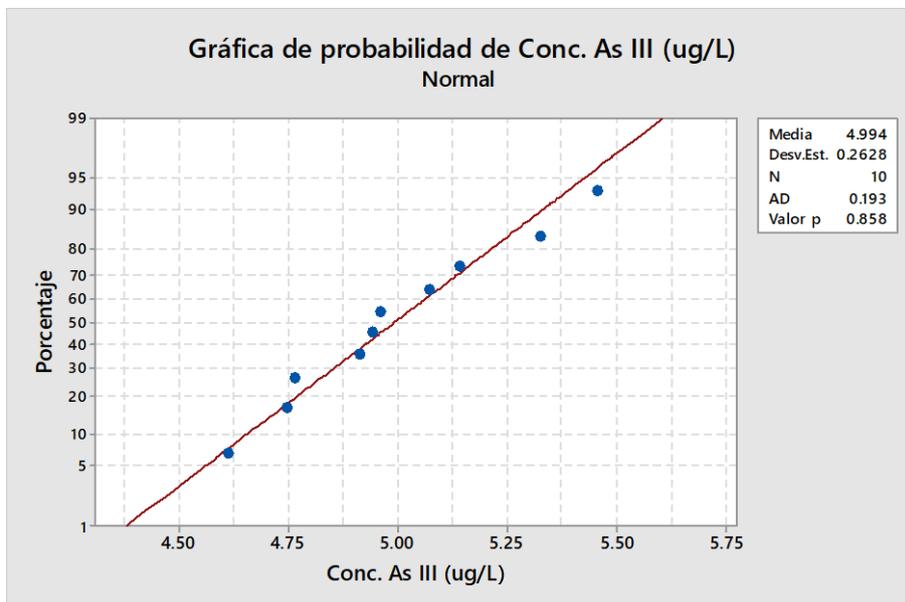
Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

Se realizó la prueba de normalidad, donde los valores presentan distribución normal (figura 17), se trabajó con la Prueba de T-Student (figura 18) comparando el valor de tendencia central (promedio) con el valor de referencia del MRC y se realizó la Prueba Índice Z (z score) según el ítem 3.6.3.3.

$$Z_{score} = |0.0212|$$

Figura 17

Gráfica de normalidad para valores de As^{+3} del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica



Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

Figura 18

Prueba de T-Student para valores de As^{+3} del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica

T de una muestra: Conc. As III (ug/L)							
Prueba de $\mu = 5$ vs. $\neq 5$							
Variable	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95%	T	P
Conc. As III (ug/L)	10	4.9944	0.2628	0.0831	(4.8064, 5.1824)	-0.07	0.948

Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

4.1.4. Precisión para arsenito (As^{+3})

Se determinó el $RSD_{exp.}$ y $RSD_{Horwitz}$ y la desviación estándar teórica según formulas del ítem 3.6.3.4. y al presentar distribución normal se realizó la prueba estadística Chi-cuadrado (figura 19), donde el valor $p > 0.05$, indica que es preciso.

$$RSD_{exp.} = 5.263$$

$$RSD_{Horwitz} = 35.525$$

$$S_T = 1.183$$

$$RSD_{experimental} \leq \left(\frac{2}{3}\right) \times RSD_{Horwitz}$$

$$5.263 \leq 23.683$$

Figura 19

Prueba Chi-cuadrado para valores de As^{+3} del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica

Prueba e IC para una varianza: Conc. As III (ug/L)				
Método				
Hipótesis nula		$\sigma = 1.183$		
Hipótesis alterna		$\sigma > 1.183$		
El método de chi-cuadrada sólo se utiliza para la distribución normal. El método de Bonett se utiliza para cualquier distribución continua.				
Estadísticas				
Variable	N	Desv.Est.	Varianza	
Conc. As III (ug/L)	10	0.263	0.0691	
95% Intervalos de confianza unilaterales				
			Límite inferior	Límite inferior
			para	para
Variable	Método	Desv.Est.	varianza	
Conc. As III (ug/L)	Chi-cuadrada	0.192	0.0367	
	Bonett	0.186	0.0346	
Pruebas				
			Estadística de prueba	GL
Variable	Método			Valor p
Conc. As III (ug/L)	Chi-cuadrada	0.44	9	1.000
	Bonett	-	-	1.000

Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

4.1.5. Veracidad para arseniato (As^{+5})

Los resultados de veracidad para arseniato se detallan en la tabla 7, el valor de concentración referencial de As^{+5} del MRC es $3\mu g/L$, la evaluación de datos atípicos se realiza en el software estadístico de Minitab (figura 20 y 21) , donde no presenta datos atípicos.

Tabla 7

Resultados obtenidos de valores de As^{+5} del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica

Nro. de lecturas	Concentración ($\mu g/L$)
1	3.17232
2	3.38933
3	2.83830
4	2.29827
5	3.42821
6	2.98149
7	3.05488
8	2.74567
9	3.45749
10	2.92867

Figura 20

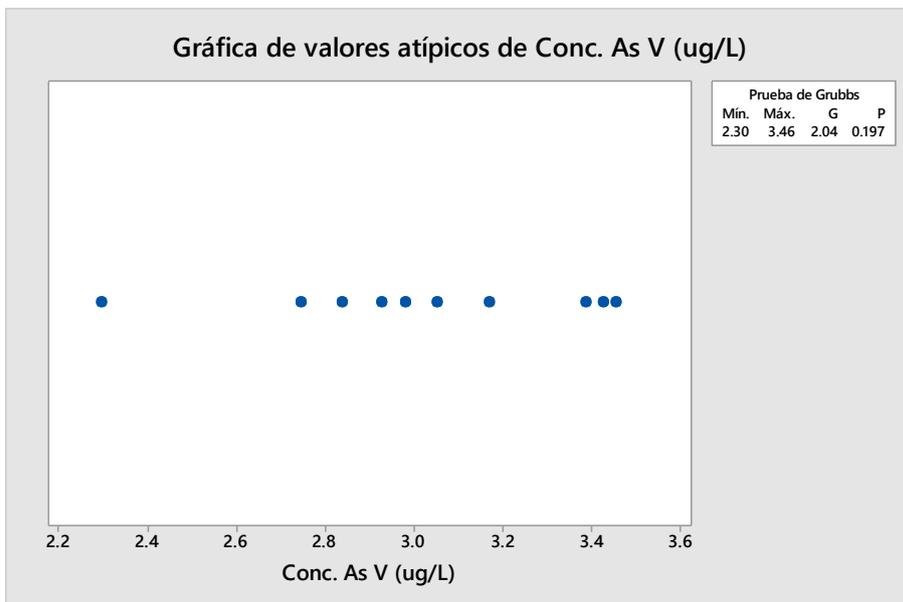
Prueba de valores atípicos para valores As^{+5} del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica

Prueba de valores atípicos: Conc. As V ($\mu g/L$)							
Método							
Hipótesis nula	Todos los valores de los datos provienen de la misma población normal						
Hipótesis alterna	El valor más pequeño o más grande de los datos es un valor atípico						
Nivel de significancia	$\alpha = 0.05$						
Prueba de Grubbs							
Variable	N	Media	Desv.Est.	Mín.	Máx.	G	P
Conc. As V ($\mu g/L$)	10	3.029	0.359	2.298	3.457	2.04	0.197
* NOTA * No hay valor atípico en el nivel de significancia de 5%							

Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

Figura 21

Gráfica de valores atípicos para valores de As^{+5} del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica



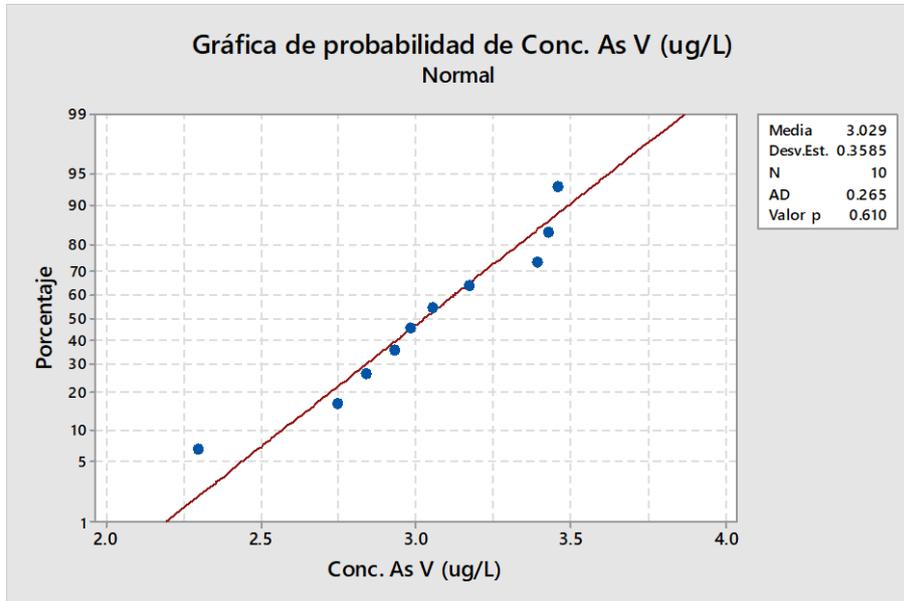
Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

Se realizó la prueba de normalidad, donde los valores presentan distribución normal (figura 22), se trabajó con la Prueba de T-Student (figura 23) comparando el valor de tendencia central (promedio) con el valor de referencia del MRC y se realizó la Prueba Índice Z (z score) según el ítem 3.6.3.3.

$$Z_{score} = |0.0822|$$

Figura 22

Gráfica de normalidad para valores de As^{+5} del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica



Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

Figura 23

Prueba de T-Student para valores de As^{+5} del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica

T de una muestra: Conc. As V (ug/L)							
Prueba de $\mu = 3$ vs. $\neq 3$							
Variable	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95%	T	P
Conc. As V (ug/L)	10	3.029	0.359	0.113	(2.773, 3.286)	0.26	0.801

Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

4.1.6. Precisión para arseniato (As^{+5})

Se determinó el $RSD_{exp.}$ y $RSD_{Horwitz}$ y la desviación estándar teórica según formulas del ítem 3.6.3.4. y al presentar distribución normal se realizó la prueba estadística Chi-cuadrado (figura 24), donde el valor $p > 0.05$, indica que es preciso.

$$RSD_{exp.} = 11.835$$

$$RSD_{Horwitz} = 38.301$$

$$S_T = 0.774$$

$$RSD_{experimental} \leq \left(\frac{2}{3}\right) \times RSD_{Horwitz}$$

$$11.835 \leq 25.534$$

Figura 24

Prueba Chi-cuadrado para valores de As^{+5} del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica

Prueba e IC para una varianza: Conc. As V (ug/L)				
Método				
Hipótesis nula		$\sigma = 0.774$		
Hipótesis alterna		$\sigma > 0.774$		
El método de chi-cuadrada sólo se utiliza para la distribución normal. El método de Bonett se utiliza para cualquier distribución continua.				
Estadísticas				
Variable	N	Desv.Est.	Varianza	
Conc. As V (ug/L)	10	0.359	0.129	
95% Intervalos de confianza unilaterales				
			Límite inferior	Límite inferior
			para	para
Variable	Método	Desv.Est.	varianza	
Conc. As V (ug/L)	Chi-cuadrada	0.262	0.068	
	Bonett	0.238	0.057	
Pruebas				
			Estadística de prueba	GL
Variable	Método			Valor p
Conc. As V (ug/L)	Chi-cuadrada	1.93	9	0.993
	Bonett	-	-	1.000

Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

4.1.7. Límite de detección del método (LDM)

Se obtienen 7 resultados de una menor concentración aceptable ($1.0 \mu\text{g/L}$) detallados en la tabla 8, los cuales, los utilizamos para la determinación del límite de detección del método calculado el según la ecuación del ítem 3.6.3.5.

Tabla 8

Resultados de muestras con baja concentración para el ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica

Nro. de lecturas	Concentración ($\mu\text{g/L}$)
1	0.944298
2	1.218255
3	1.000152
4	1.034908
5	1.071459
6	1.000195
7	1.181843

Desviación estándar (S) : 0.100878175

Número de datos (n) : 7

α : 0.01

$t_{(6,0.01)}$: 3.142668403

LDM = 0.32 $\mu\text{g/L}$

4.1.8. Límite de cuantificación del método (LCM)

Determinamos el límite de cuantificación del método utilizando la ecuación del ítem 3.6.3.6. tomando el mayor valor de constante ($K=10$), y se analizaron 10 muestras detalladas en la tabla 9 para la evaluación de veracidad y precisión.

Desviación estándar (S) : 0.100878175

$$\text{LCM} = 1.0 \mu\text{g/L}$$

Tabla 9

Resultados del LCM para el ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica

Nro. de lecturas	Concentración ($\mu\text{g/L}$)
1	0.944298
2	1.218255
3	1.000152
4	1.034908
5	1.071459
6	1.000195
7	1.181843
8	1.055058
9	0.942693
10	1.087341

4.1.8.1. Veracidad para LCM. La evaluación de datos atípicos se realiza en el software estadístico de Minitab (figura 25 y 26), donde no presenta datos atípicos.

Figura 25

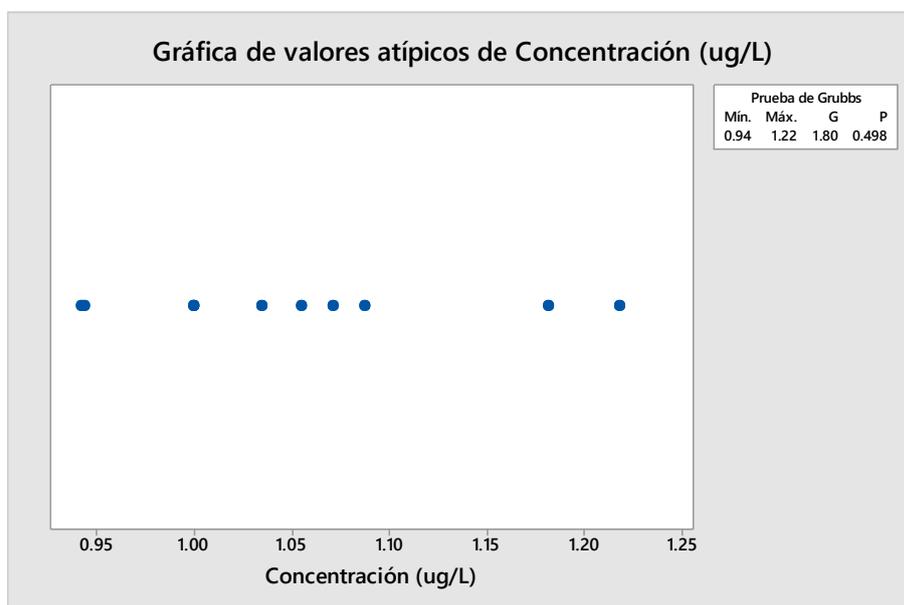
Prueba de valores atípicos para valores de LCM del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica

Prueba de valores atípicos: Concentración (ug/L)							
Método							
Hipótesis nula	Todos los valores de los datos provienen de la misma población normal						
Hipótesis alterna	El valor más pequeño o más grande de los datos es un valor atípico						
Nivel de significancia	$\alpha = 0.05$						
Prueba de Grubbs							
Variable	N	Media	Desv.Est.	Min.	Máx.	G	P
Concentración (ug/L)	10	1.0536	0.0915	0.9427	1.2183	1.80	0.498
* NOTA * No hay valor atípico en el nivel de significancia de 5%							

Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

Figura 26

Gráfica de valores atípicos para valores de LCM del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica



Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

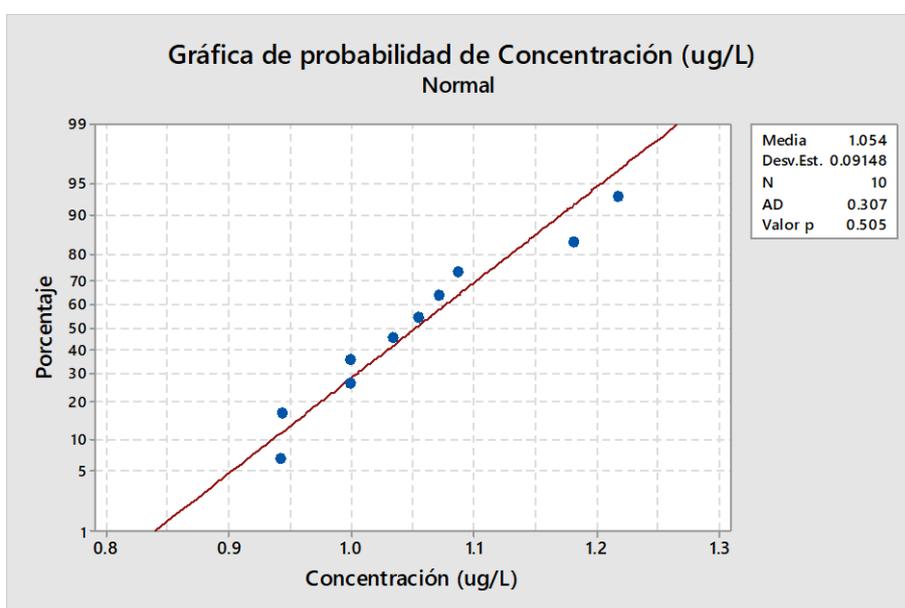
Se realizó la prueba de normalidad, donde los valores presentan distribución normal (figura 27), se trabajó con la Prueba de T-Student (figura 28) comparando el valor de

tendencia central (promedio) con el valor de referencia del MRC y se realizó la Prueba Índice Z (z score) según el ítem 3.6.3.3.

$$Z_{\text{score}} = |0.5861|$$

Figura 27

Gráfica de normalidad para valores de LCM del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica



Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

Figura 28

Prueba de T-Student para valores de LCM del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica

T de una muestra: Concentración (ug/L)							
Prueba de $\mu = 1$ vs. $\neq 1$							
				Error estándar de la			
Variable	N	Media	Desv.Est.	media	IC de 95%	T	P
Concentración (ug/L)	10	1.0536	0.0915	0.0289	(0.9882, 1.1191)	1.85	0.097

Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

4.1.8.2. Precisión para LCM. Se determinó el $RSD_{exp.}$ y $RSD_{Horwitz}$ y la desviación estándar teórica según formulas del ítem 3.6.3.4. y al presentar distribución normal se realizó la prueba estadística Chi-cuadrado (figura 29), donde el valor $p > 0.05$, indica que es preciso.

$$RSD_{exp.} = 8.683$$

$$RSD_{Horwitz} = 44.9004$$

$$S_T = 0.315$$

$$RSD_{experimental} \leq \left(\frac{2}{3}\right) \times RSD_{Horwitz}$$

$$8.683 \leq 29.934$$

Figura 29

Prueba Chi-cuadrado para valores de LCM del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica

Prueba e IC para una varianza: Concentración (ug/L)				
Método				
Hipótesis nula		$\sigma = 0.315$		
Hipótesis alterna		$\sigma > 0.315$		
El método de chi-cuadrada sólo se utiliza para la distribución normal. El método de Bonett se utiliza para cualquier distribución continua.				
Estadísticas				
Variable	N	Desv.Est.	Varianza	
Concentración (ug/L)	10	0.0915	0.00837	
95% Intervalos de confianza unilaterales				
		Límite inferior	Límite inferior	
		para	para	
Variable	Método	Desv.Est.	varianza	
Concentración (ug/L)	Chi-cuadrada	0.0667	0.00445	
	Bonett	0.0626	0.00391	
Pruebas				
		Estadística de prueba	GL	Valor p
Concentración (ug/L)	Chi-cuadrada	0.76	9	1.000
	Bonett	-	-	1.000

Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

4.1.9. Rango de trabajo

Se determinó que 1µg/L es la concentración mínima cuantificable (LCM) para el ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica. Para la concentración máxima cuantificable se determinó la concentración de 20 µg/L, y se analizaron 10 muestras detalladas en la tabla 10 para la evaluación de veracidad y precisión.

Tabla 10

Resultados de Rango alto para el ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica

Nro. de lecturas	Concentración (µg/L)
1	20.6747
2	20.2572
3	19.9652
4	20.3764
5	19.3033
6	19.8503
7	20.4479
8	19.5778
9	20.0330
10	20.6676

4.1.9.1. Veracidad para concentración máxima detectable. La evaluación de datos atípicos se realiza en el software estadístico de Minitab (figura 30 y 31), donde no presenta datos atípicos.

Figura 30

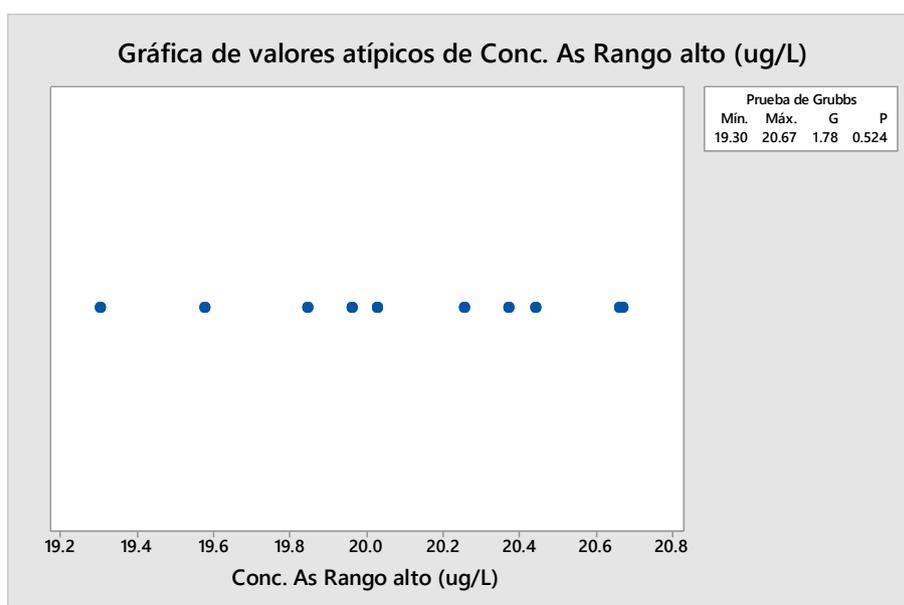
Prueba de valores atípicos para valores de conc. máxima detectable del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica

Prueba de valores atípicos: Conc. As R. Alto (ug/L)							
Método							
Hipótesis nula	Todos los valores de los datos provienen de la misma población normal						
Hipótesis alterna	El valor más pequeño o más grande de los datos es un valor atípico						
Nivel de significancia	$\alpha = 0.05$						
Prueba de Grubbs							
Variable	N	Media	Desv.Est.	Mín.	Máx.	G	P
Conc. As R. Alto (ug/L)	10	20.115	0.455	19.303	20.675	1.78	0.524
* NOTA * No hay valor atípico en el nivel de significancia de 5%							

Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

Figura 31

Gráfica de valores atípicos para valores de conc. máxima detectable del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica



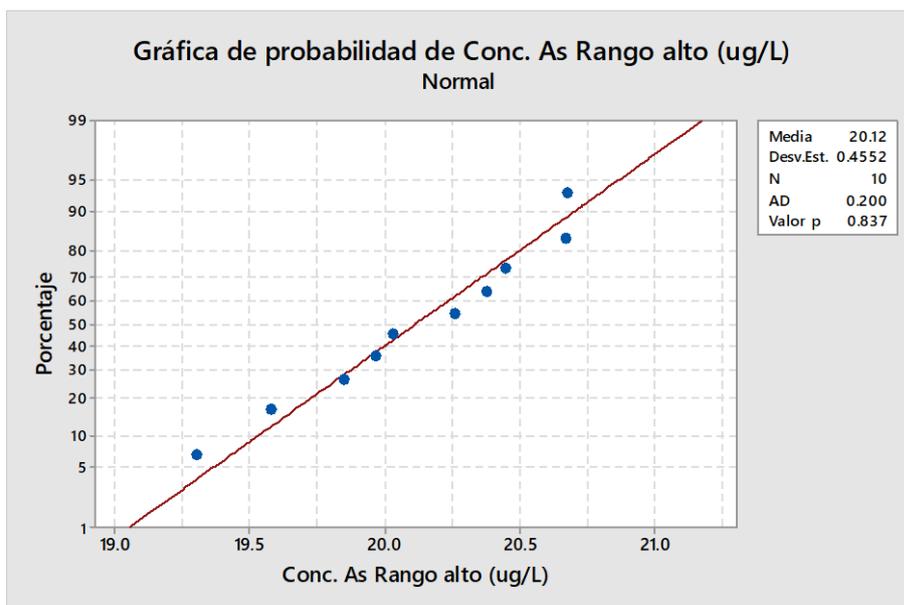
Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

Se realizó la prueba de normalidad, donde los valores presentan distribución normal (figura 32), se trabajó con la Prueba de T-Student (figura 33) comparando el valor de tendencia central (promedio) con el valor de referencia del MRC y se realizó la Prueba Índice Z (z score) según el ítem 3.6.3.3.

$$Z_{\text{score}} = |0.2534|$$

Figura 32

Gráfica de normalidad para valores de conc. máxima detectable del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica



Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

Figura 33

Prueba de T-Student para valores de conc. máxima detectable del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica

T de una muestra: Conc. As R. Alto (ug/L)							
Prueba de $\mu = 20$ vs. $\neq 20$							
Variable	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95%	T	P
Conc. As R. Alto (ug/L)	10	20.115	0.455	0.144	(19.790, 20.441)	0.80	0.444

Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

4.1.9.2. Precisión para concentración máxima detectable. Se determinó el $RSD_{exp.}$ y $RSD_{Horwitz}$ y la desviación estándar teórica según formulas del ítem 3.6.3.4. y al presentar distribución normal se realizó la prueba estadística Chi-cuadrado (figura 34), donde el valor $p > 0.05$, indica que es preciso.

$$RSD_{exp.} = 2.263$$

$$RSD_{Horwitz} = 28.805$$

$$S_T = 3.863$$

$$RSD_{experimental} \leq \left(\frac{2}{3}\right) \times RSD_{Horwitz}$$

$$2.263 \leq 19.203$$

Figura 34

Prueba Chi-cuadrado para valores de LCM del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica iónico

Prueba e IC para una varianza: Conc. As R. Alto (ug/L)				
Método				
Hipótesis nula	$\sigma = 3.863$			
Hipótesis alterna	$\sigma > 3.863$			
El método de chi-cuadrada sólo se utiliza para la distribución normal. El método de Bonett se utiliza para cualquier distribución continua.				
Estadísticas				
Variable	N	Desv.Est.	Varianza	
Conc. As R. Alto (ug/L)	10	0.455	0.207	
95% Intervalos de confianza unilaterales				
			Límite inferior para	Límite inferior para
Variable	Método	Desv.Est.	varianza	
Conc. As R. Alto (ug/L)	Chi-cuadrada	0.332	0.110	
	Bonett	0.329	0.108	
Pruebas				
Variable	Método	Estadística de prueba	GL	Valor p
Conc. As R. Alto (ug/L)	Chi-cuadrada	0.12	9	1.000

Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

Rango de trabajo: [1.0 µg/L – 20.0 µg/L]

4.1.10. Robustez

Asignamos factores a las variables según la tabla 11, se realizan los análisis con las variaciones y los resultados obtenidos se detallan en la tabla 12. Finalmente se calculan los efectos de los factores según el ítem 3.6.3.8. (tabla 13).

Tabla 11*Variables y factores de robustez*

VARIABLES	FACTORES	
Acidificación de la muestra con ácido clorhídrico concentrado.	0.5 ml	A
	1.0 ml	a
Volumen de Yoduro de Potasio	1.0 ml	B
	2.5 ml	b
Volumen de ácido clorhídrico concentrado	1.0 ml	C
	2.5 ml	c
Reposo de la muestra	45 min.	D
	60 min.	d

Tabla 12*Resultados de las variaciones para prueba de robustez*

REPETICIONES	A,a	B,b	C,c	D,d	RESULTADOS µg/L
R1	A	B	C	D	9.856
R2	A	B	c	D	9.890
R3	A	b	C	d	9.948
R4	A	b	c	d	10.487
R5	a	B	C	d	10.030
R6	a	B	c	d	9.872
R7	a	b	C	D	9.808
R8	a	b	c	D	9.862

Tabla 13*Efecto de los factores*

	Efecto	2.24 S		Efecto	2.24 S
Efecto(A)	0.1520	0.1921	Efecto(C)	0.1874	0.1921
Efecto(B)	0.1556	0.1921	Efecto(D)	0.1838	0.1921

El método es robusto para el efecto A

El método es robusto para el efecto C

El método es robusto para el efecto B

El método es robusto para el efecto D

4.1.11. Consolidado de resultados

Se presentan los resultados de los parámetros de validación aplicados al ensayo con resina de intercambio iónico, ver tabla 14.

Tabla 14

Consolidado de resultados de los parámetros de validación para el ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica

PARÁMETRO	CRITERIO PROPUESTO	CRITERIO OBTENIDO
LINEALIDAD	$r(x, y) \geq 0.90$	$r = 0.9989$ Cumple
SENSIBILIDAD	Pendiente de la curva	$b \in [0.0244; 0.0258]$
VERACIDAD	t-student ($p > 0.05$)	As^{+3} T-Student: $p = 0.948$, los resultados de las repeticiones son veraces al 95% de confianza
	Indice Z (z Score) : $ Z \leq 2 = \text{Satisfactorio}$ $2 < Z \leq 3 = \text{Cuestionable}$ $ Z > 3 = \text{Insatisfactorio}$	$z \rightarrow 0.5861 \leq 2$ Satisfactorio As^{+5} T-Student: $p = 0.801$, los resultados de las repeticiones son veraces al 95% de confianza
PRECISIÓN	REPETIBILIDAD: $RSD_{exp.} \leq \left(\frac{2}{3}\right) \times RSD_{Horwitz}$	As^{+3} $5.263 \leq 23.683$ Preciso
		As^{+5} $11.835 \leq 25.534$ Preciso
LDM	$LDM = t_{(n-1, \alpha)} \times S_{Muestras}$	0.32 $\mu\text{g/L}$
LCM	$LCM \rightarrow 10 \times S_B$	1.0 $\mu\text{g/L}$
RANGO DE TRABAJO	---	1.0 $\mu\text{g/L}$ – 20.0 $\mu\text{g/L}$
ROBUSTEZ	$Efecto_A \leq 2.24S$	$Efecto(A, B, C, D) < 0.1921$ El método es robusto

4.2. Respecto a la validación del ensayo para determinación de especies de arsénico inorgánico con cromatografía iónica

A continuación, se detallan los resultados obtenidos para cada parámetro de validación.

4.2.1. Linealidad

Los resultados obtenidos respecto al parámetro linealidad se detallan en la tabla 15, la cual presenta los valores obtenidos para las curvas de calibración correspondientes a las figuras 35, 36 y 37, el procedimiento del parámetro linealidad se especificó en el ítem 3.6.3.1.

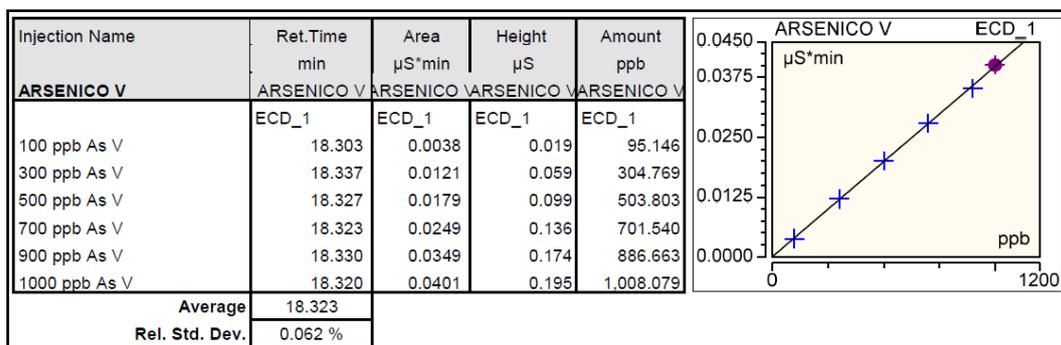
Tabla 15

Resultados de concentración y absorbancia para el parámetro linealidad del ensayo con cromatografía iónica

Día	Concentración del estándar de As ($\mu\text{g/L}$)	$\mu\text{S}^*\text{min}$
1	100	0.0038
	300	0.0121
	500	0.0179
	700	0.0249
	1000	0.0349
2	100	0.0033
	300	0.0099
	500	0.0171
	700	0.0246
	1000	0.0356
3	100	0.0034
	300	0.0112
	500	0.0171
	700	0.0248
	1000	0.0342

Figura 35

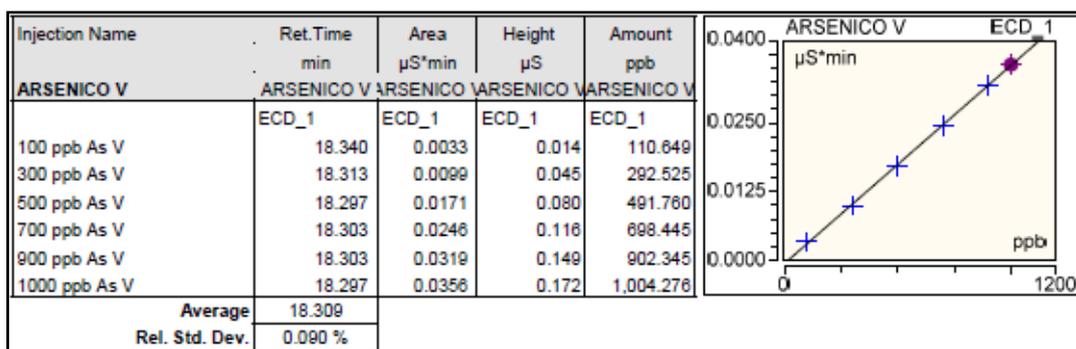
Primera curva de calibración de As^{+5} por cromatografía iónica



Nota. Tomado de software Chromeleon.

Figura 36

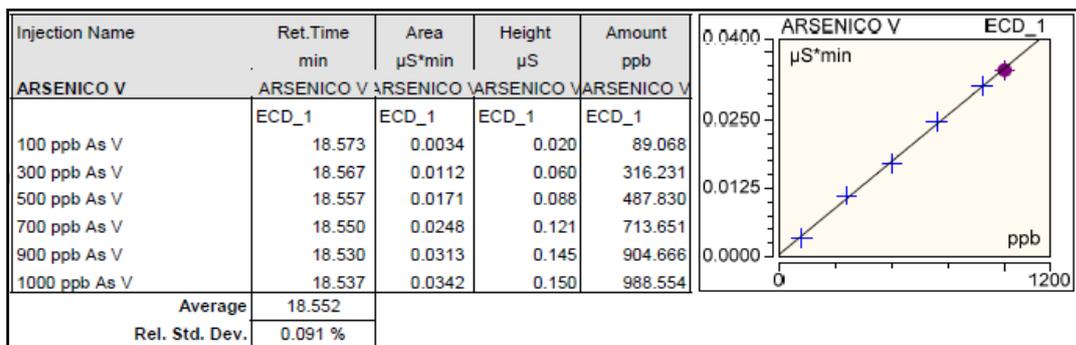
Segunda curva de calibración de As^{+5} por cromatografía iónica



Nota. Tomado de software Chromeleon.

Figura 37

Tercera curva de calibración de As^{+5} por cromatografía iónica

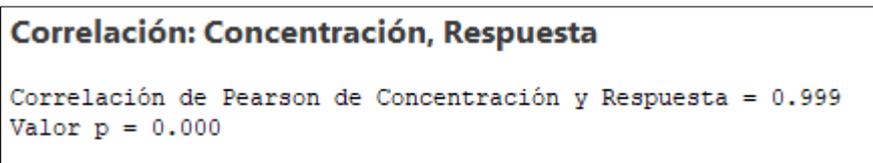


Nota. Tomado de software Chromeleon.

4.2.1.1. Correlación entre la respuesta del equipo y la concentración. Este resultado lo obtenemos del software estadístico de Minitab, donde obtenemos el valor p (figura 38) y el valor del R-cuadrado (ajustado) (tabla 16) que es equivalente al coeficiente de determinación, del cual obtenemos el coeficiente de correlación, y la dispersión de los datos de respuesta y concentración graficados en la figura 39.

Figura 38

Correlación entre Respuesta y Concentración



Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

Tabla 16

Resumen de regresión lineal del ensayo con cromatografía iónica

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coefficiente de correlación múltiple	0.998590975
Coefficiente de determinación R ²	0.997183935
R ² ajustado	0.996967315
Error típico	0.000619708
Observaciones	15

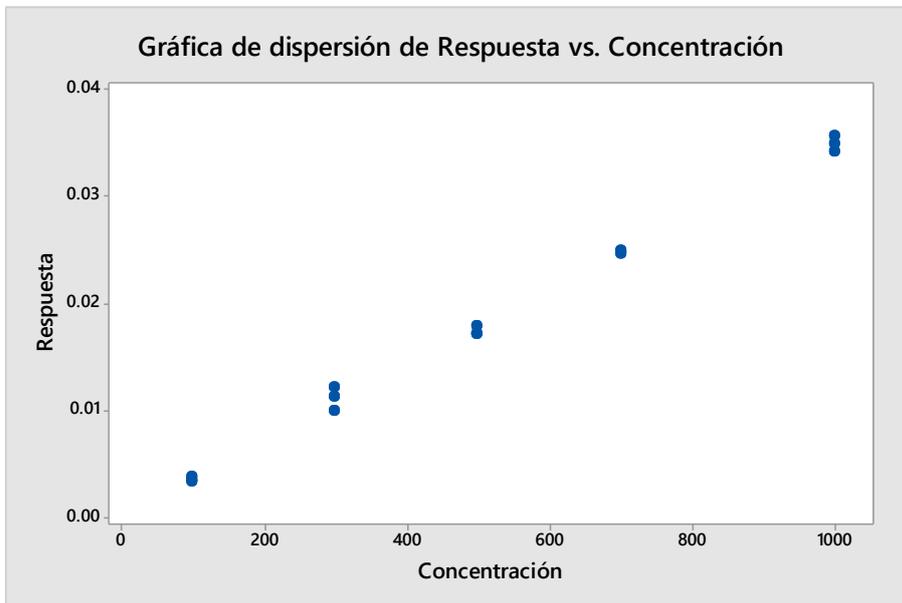
Nota. Tomado de Software de hoja de cálculo de Microsoft Excel.

$$r^2 = 0.9970$$

$$r = 0.9985$$

Figura 39

Gráfica de dispersión de la Absorbancia vs Concentración del ensayo con cromatografía iónica



Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

4.2.1.2. Relación lineal con el análisis de varianza de la regresión. Este

resultado se obtiene del software estadístico de Minitab, obteniendo el Valor p (figura 40).

Figura 40

Análisis de regresión: Respuesta vs. Concentración

Análisis de regresión: Respuesta vs. Concentración					
Análisis de Varianza					
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Regresión	1	0.001768	0.001768	4603.37	0.000
Concentración	1	0.001768	0.001768	4603.37	0.000
Error	13	0.000005	0.000000		
Falta de ajuste	3	0.000001	0.000000	0.79	0.529
Error puro	10	0.000004	0.000000		
Total	14	0.001773			

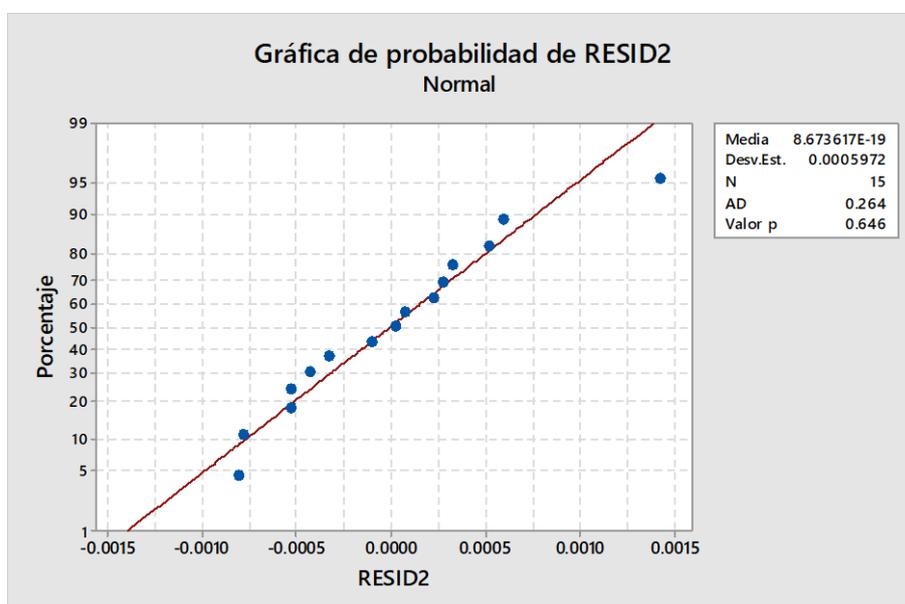
Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

p < 0.05

4.2.1.3. Evaluación de los residuos. Los resultados de los residuos se obtienen en el software de hoja de cálculo de Microsoft Excel, usando la opción Regresión en Análisis de datos los cuales deben estar libre de tendencia como se demuestra en la gráfica de Normalidad (figura 41).

Figura 41

Gráfica de normalidad de los residuos del ensayo con cromatografía iónica



Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

4.2.2. Sensibilidad analítica

Los resultados de sensibilidad de detallan en la tabla 17, por medio del análisis de varianza obtenido en el programa software de hoja de cálculo de Microsoft Excel, nos muestra el valor de la pendiente (Variable X 1) y los rangos de aceptación para ésta.

Tabla 17

Análisis de varianza del ensayo con cromatografía iónica

Análisis de varianza

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>		
Regresión	1	0.001767872	0.001767872		
Residuos	13	4.9925E-06	3.84038E-07		
Total	14	0.001772864			
	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>		
Intercepción	0.00025	0.0003107	0.804635662		
Variable X 1	0.00003475	5.12173E-07	67.8481463		
	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>			
Regresión	4603.370956	5.75218E-18			
Residuos					
Total					
	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95.0%</i>	<i>Superior 95.0%</i>
Intercepción	0.435498955	-0.000421226	0.000921226	-0.000421226	0.000921226
Variable X 1	5.75218E-18	3.36435E-05	3.58565E-05	3.36435E-05	3.58565E-05

Nota. Tomado de Software de hoja de cálculo de Microsoft Excel.

Ecuación de regresión

$$\text{Respuesta} = 0.000250 + 0.000035 \text{ Concentración}$$

Rangos de aceptación para pendiente (b):

$$b \in [0.00003364; 0.00003586]$$

4.2.3. Veracidad para arseniato (As^{+5})

Los resultados de veracidad para arsenito se detallan en la tabla 18, el valor de concentración referencial de As^{+5} del MRC es $500\mu\text{g/L}$, la evaluación de datos atípicos se

realiza en el software estadístico de Minitab (figura 42 y 43), donde no presenta datos atípicos.

Tabla 18

Resultados obtenidos de valores de As⁺⁵ del ensayo con cromatografía iónica

Nro. de lecturas	Concentración (µg/L)
1	497.3435
2	504.0501
3	493.6926
4	502.7318
5	502.9565
6	496.244
7	496.4756
8	498.7011
9	505.3763
10	503.8031

Figura 42

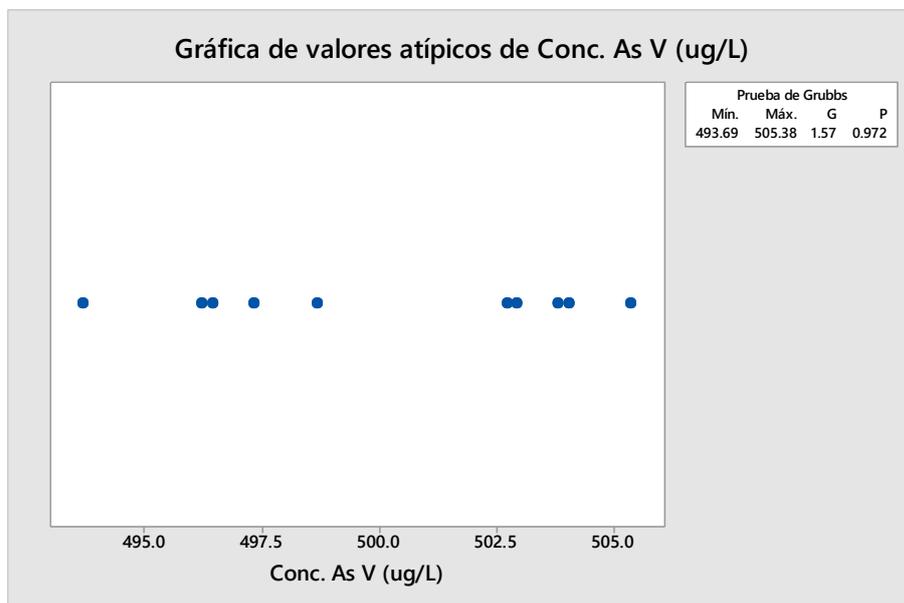
Prueba de valores atípicos para valores As+5 del ensayo con cromatografía iónica

Prueba de valores atípicos: Conc. As V (ug/L)							
Método							
Hipótesis nula	Todos los valores de los datos provienen de la misma población normal						
Hipótesis alterna	El valor más pequeño o más grande de los datos es un valor atípico						
Nivel de significancia	$\alpha = 0.05$						
Prueba de Grubbs							
Variable	N	Media	Desv.Est.	Mín.	Máx.	G	P
Conc. As V (ug/L)	10	500.14	4.09	493.69	505.38	1.57	0.972
* NOTA * No hay valor atípico en el nivel de significancia de 5%							

Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

Figura 43

Gráfica de valores atípicos para valores de As⁺⁵ del ensayo con cromatografía iónica



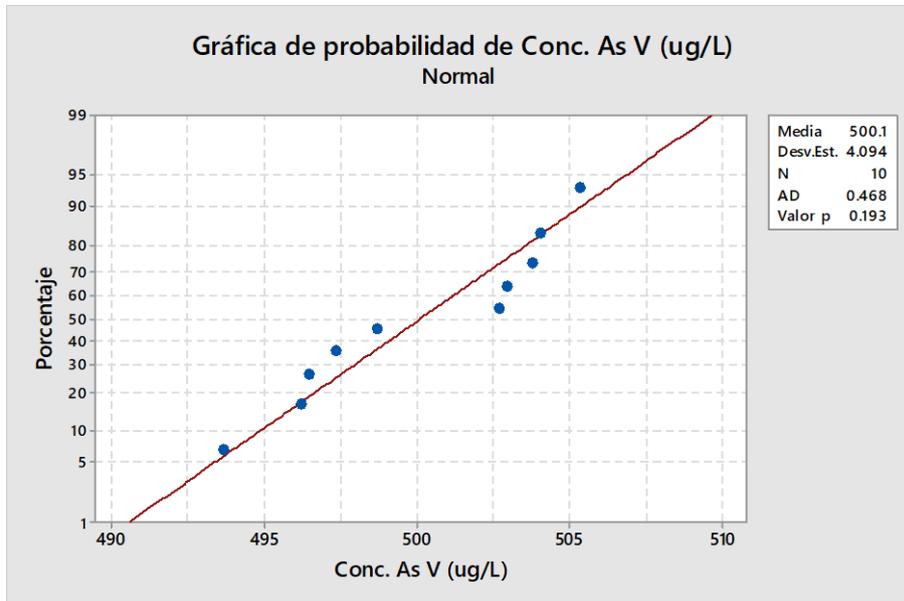
Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

Se realizó la prueba de normalidad, donde los valores presentan distribución normal (figura 44), se trabajó con la Prueba de T-Student (figura 45) comparando el valor de tendencia central (promedio) con el valor de referencia del MRC y se realizó la Prueba Índice Z (z score) según el ítem 3.6.3.3.

$$Z_{\text{score}} = |0.2534|$$

Figura 44

Gráfica de normalidad para valores de As^{+5} del ensayo con cromatografía iónica



Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

Figura 45

Prueba de T-Student para valores de As^{+5} del ensayo con cromatografía iónica

T de una muestra: Conc. As V (ug/L)

Prueba de $\mu = 500$ vs. $\neq 500$

Variable	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95%	T	P
Conc. As V (ug/L)	10	500.14	4.09	1.29	(497.21, 503.07)	0.11	0.918

Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

4.2.4. Precisión para arseniato (As^{+5})

Se determinó el $RSD_{exp.}$ y $RSD_{Horwitz}$ y la desviación estándar teórica según formulas del ítem 3.6.3.4. y al presentar distribución normal se realizó la prueba estadística Chi-cuadrado (figura 46), donde el valor $p > 0.05$, indica que es preciso.

$$RSD_{exp.} = 0.819$$

$$RSD_{Horwitz} = 17.759$$

$$S_T = 59.212$$

$$RSD_{experimental} \leq \left(\frac{2}{3}\right) \times RSD_{Horwitz}$$

$$0.819 \leq 11.839$$

Figura 46

Prueba Chi-cuadrado para valores de As^{+5} del ensayo con cromatografía iónica

Prueba e IC para una varianza: Conc. As V (ug/L)				
Método				
Hipótesis nula	$\sigma = 59.212$			
Hipótesis alterna	$\sigma > 59.212$			
El método de chi-cuadrada sólo se utiliza para la distribución normal. El método de Bonett se utiliza para cualquier distribución continua.				
Estadísticas				
Variable	N	Desv.Est.	Varianza	
Conc. As V (ug/L)	10	4.09	16.8	
95% Intervalos de confianza unilaterales				
			Límite inferior	Límite inferior
			para	para
Variable	Método	Desv.Est.	varianza	
Conc. As V (ug/L)	Chi-cuadrada	2.99	8.9	
	Bonett	3.29	10.8	
Pruebas				
Variable	Método	Estadística de prueba	GL	Valor p
Conc. As V (ug/L)	Chi-cuadrada	0.04	9	1.000
	Bonett	-	-	1.000

Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

4.2.5. Límite de detección del método (LDM)

Se obtienen 7 resultados de una menor concentración aceptable (100 µg/L) detallados en la tabla 19, los cuales, los utilizamos para la determinación del límite de detección del método calculado el según la ecuación del ítem 3.6.3.5.

Tabla 19

Resultados de muestras con baja concentración para el ensayo con cromatografía iónica

Nro. de lecturas	Concentración (µg/L)
1	88.8085
2	95.1465
3	89.6795
4	106.6761
5	111.8064
6	84.5365
7	99.9071

Desviación estándar (S) : 9.999351758

Número de datos (n) : 7

α : 0.01

t(6;0.01) : 3.142668403

$$\text{LDM} = 31.4 \text{ µg/L}$$

4.2.6. Límite de cuantificación del método (LCM)

Determinamos el límite de cuantificación del método utilizando la ecuación del ítem 3.6.3.6. tomando el mayor valor de constante (K=10), y se analizaron 10 muestras detalladas en la tabla 20 para la evaluación de veracidad y precisión.

Desviación estándar (S) : 9.999351758

$$\text{LCM} = 100 \mu\text{g/L}$$

Tabla 20

Resultados del LCM para el ensayo con cromatografía iónica

Nro. de lecturas	Concentración ($\mu\text{g/L}$)
1	95.1465
2	88.8085
3	89.6795
4	106.6761
5	111.8064
6	84.5365
7	99.9071
8	126.8553
9	100.8255
10	95.6976

4.2.6.1. Veracidad para LCM. La evaluación de datos atípicos se realiza en el software estadístico de Minitab (figura 47 y 48), donde no presenta datos atípicos.

Figura 47

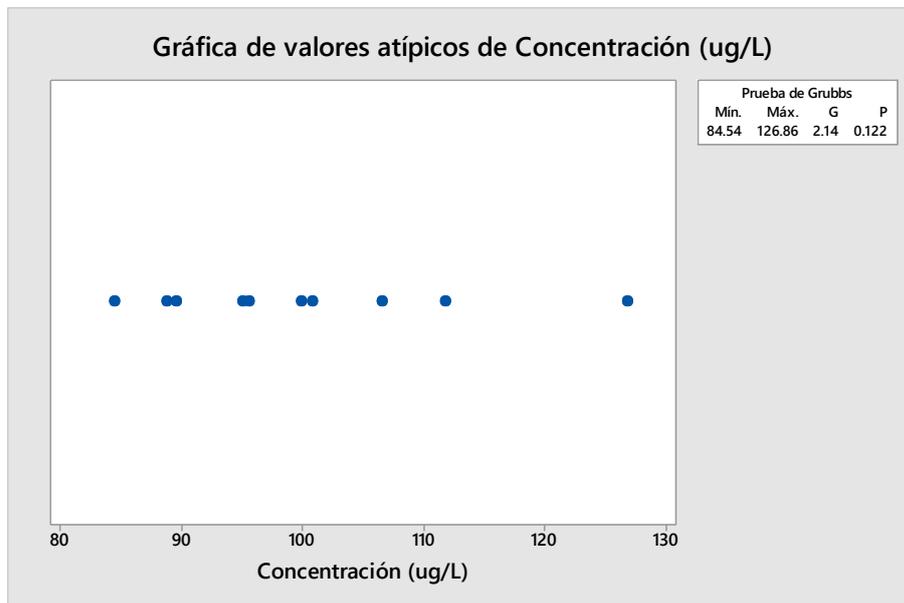
Prueba de valores atípicos para valores de LCM del ensayo con cromatografía iónica

Prueba de valores atípicos: Concentración (ug/L)							
Método							
Hipótesis nula	Todos los valores de los datos provienen de la misma población normal						
Hipótesis alterna	El valor más pequeño o más grande de los datos es un valor atípico						
Nivel de significancia	$\alpha = 0.05$						
Prueba de Grubbs							
Variable	N	Media	Desv.Est.	Mín.	Máx.	G	P
Concentración (ug/L)	10	99.99	12.56	84.54	126.86	2.14	0.122
* NOTA * No hay valor atípico en el nivel de significancia de 5%							

Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

Figura 48

Gráfica de valores atípicos para valores de LCM del ensayo con cromatografía iónica



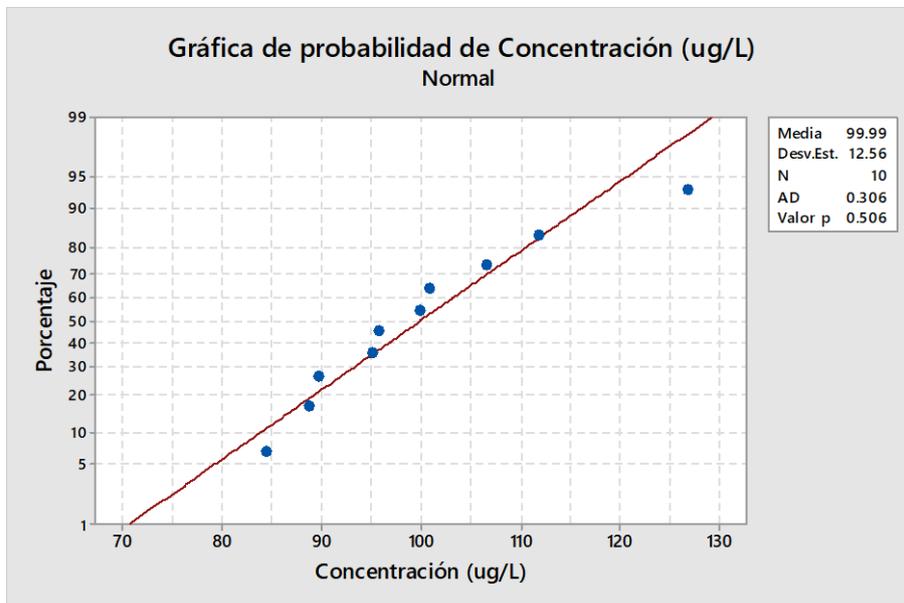
Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

Se realizó la prueba de normalidad, donde los valores presentan distribución normal (figura 49), se trabajó con la Prueba de T-Student (figura 50) comparando el valor de tendencia central (promedio) con el valor de referencia del MRC y se realizó la Prueba Índice Z (z score) según el ítem 3.6.3.3.

$$Z_{\text{score}} = |-0.0005|$$

Figura 49

Gráfica de normalidad para valores de LCM del ensayo con cromatografía iónica



Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

Figura 50

Prueba de T-Student para valores de LCM del ensayo con cromatografía

T de una muestra: Concentración (ug/L)

Prueba de $\mu = 100$ vs. $\neq 100$

Variable	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95%	T	P
Concentración (ug/L)	10	99.99	12.56	3.97	(91.01, 108.98)	-0.00	0.999

Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

4.2.6.2. Precisión para LCM. Se determinó el $RSD_{exp.}$ y $RSD_{Horwitz}$ y la desviación estándar teórica según formulas del ítem 3.6.3.4. y al presentar distribución normal se realizó la prueba estadística Chi-cuadrado (figura 51), donde el valor $p > 0.05$, indica que es preciso.

$$RSD_{exp.} = 12.556$$

$$RSD_{Horwitz} = 22.628$$

$$S_T = 15.084$$

$$RSD_{experimental} \leq \left(\frac{2}{3}\right) \times RSD_{Horwitz}$$

$$12.556 \leq 15.084$$

Figura 51

Prueba Chi-cuadrado para valores de LCM del ensayo con cromatografía

Prueba e IC para una varianza: Concentración (ug/L)				
Método				
Hipótesis nula		$\sigma = 15.084$		
Hipótesis alterna		$\sigma > 15.084$		
El método de chi-cuadrada sólo se utiliza para la distribución normal. El método de Bonett se utiliza para cualquier distribución continua.				
Estadísticas				
Variable	N	Desv.Est.	Varianza	
Concentración (ug/L)	10	12.6	158	
95% Intervalos de confianza unilaterales				
		Límite inferior	Límite inferior	
		para	para	
Variable	Método	Desv.Est.	varianza	
Concentración (ug/L)	Chi-cuadrada	9.2	84	
	Bonett	7.6	59	
Pruebas				
		Estadística de prueba	GL	Valor p
Variable	Método			
Concentración (ug/L)	Chi-cuadrada	6.24	9	0.716
	Bonett	-	-	0.791

Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

4.2.7. Rango de trabajo

Se determinó que 100 µg/L es la concentración mínima cuantificable (LCM) para el ensayo con resina de intercambio iónico. Para la concentración máxima cuantificable se determinó la concentración de 1000 µg/L, y se analizaron 10 muestras detalladas en la tabla 21 para la evaluación de veracidad y precisión.

Tabla 21

Resultados obtenidos de valores de Rango alto para el ensayo con cromatografía iónica.

Nro. de lecturas	Concentración (µg/L)
1	1008.0785
2	999.8770
3	976.6362
4	1022.8139
5	986.8316
6	1029.7704
7	1017.8029
8	1006.2189
9	988.7650
10	979.5134

4.2.7.1. Veracidad para concentración máxima detectable. La evaluación de datos atípicos se realiza en el software estadístico de Minitab (figura 52 y 53), donde no presenta datos atípicos.

Figura 52

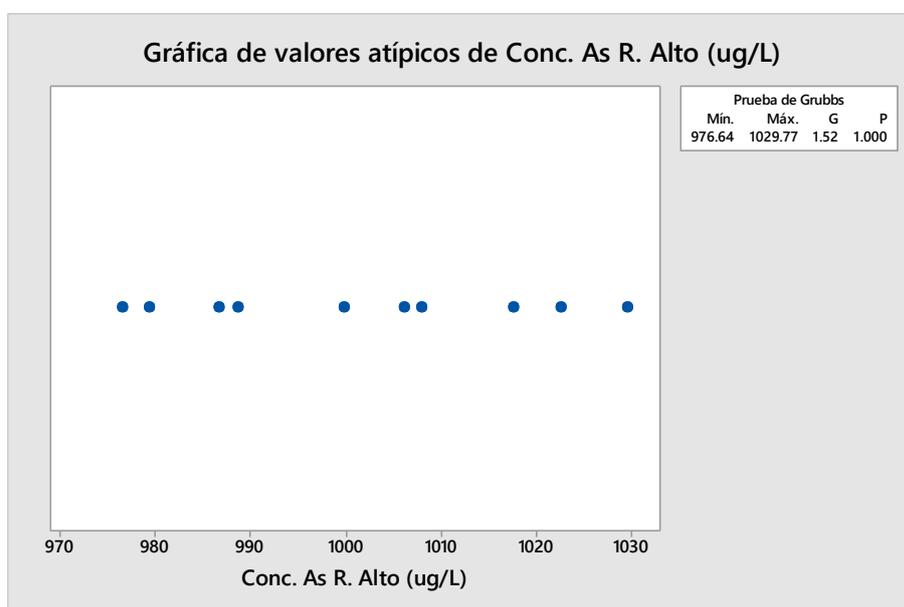
Prueba de valores atípicos para valores de conc. máxima detectable del ensayo con cromatografía iónica

Prueba de valores atípicos: Conc. As R. Alto (ug/L)							
Método							
Hipótesis nula	Todos los valores de los datos provienen de la misma población normal						
Hipótesis alterna	El valor más pequeño o más grande de los datos es un valor atípico						
Nivel de significancia	$\alpha = 0.05$						
Prueba de Grubbs							
Variable	N	Media	Desv.Est.	Min.	Máx.	G	P
Conc. As R. Alto (ug/L)	10	1001.6	18.5	976.6	1029.8	1.52	1.000
* NOTA * No hay valor atípico en el nivel de significancia de 5%							

Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

Figura 53

Gráfica de valores atípicos para valores de conc. máxima detectable del ensayo con cromatografía iónica



Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

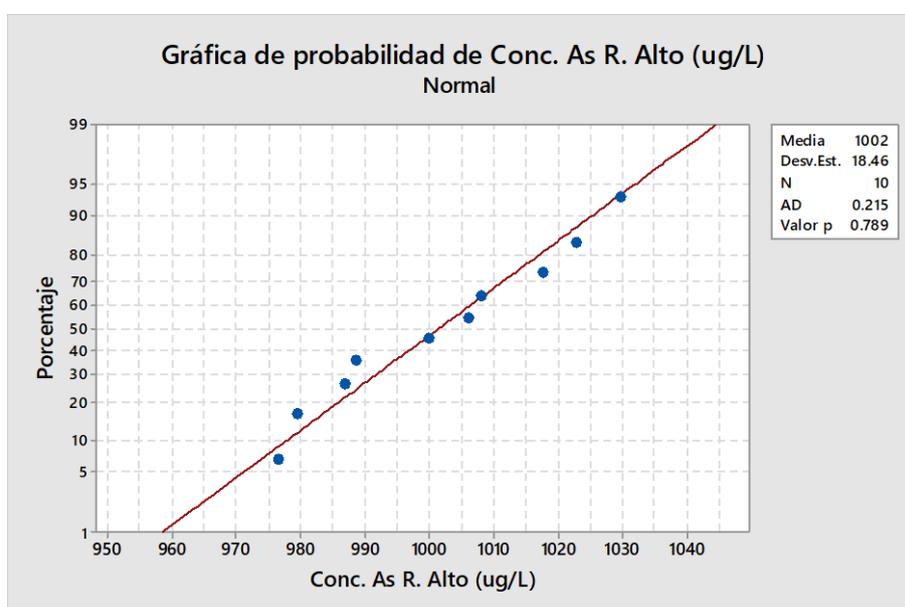
Se realizó la prueba de normalidad, donde los valores presentan distribución normal (figura 54), se trabajó con la Prueba de T-Student (figura 55) comparando el valor de tendencia

central (promedio) con el valor de referencia del MRC y se realizó la Prueba Índice Z (z score) según el ítem 3.6.3.3.

$$Z_{\text{score}} = |0.0884|$$

Figura 54

Gráfica de normalidad para valores de conc. máxima detectable del ensayo con cromatografía iónica



Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

Figura 55

Prueba de T-Student para valores de conc. máxima detectable del ensayo con cromatografía iónica.

T de una muestra: Conc. As R. Alto (ug/L)							
Prueba de $\mu = 1000$ vs. $\neq 1000$							
Variable	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95%	T	P
Conc. As R. Alto (ug/L)	10	1001.63	18.46	5.84	(988.43, 1014.83)	0.28	0.786

Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

4.2.7.2. Precisión para concentración máxima detectable. Se determinó el $RSD_{exp.}$ y $RSD_{Horwitz}$ y la desviación estándar teórica según formulas del ítem 3.6.3.4. y al presentar distribución normal se realizó la prueba estadística Chi-cuadrado (figura 56), donde el valor $p > 0.05$, indica que es preciso.

$$RSD_{exp.} = 1.843$$

$$RSD_{Horwitz} = 15.996$$

$$S_T = 106.814$$

$$RSD_{experimental} \leq \left(\frac{2}{3}\right) \times RSD_{Horwitz}$$

$$1.843 \leq 15.996$$

Figura 56

Prueba Chi-cuadrado para valores de LCM del ensayo con cromatografía iónica.

Prueba e IC para una varianza: Conc. As R. Alto (ug/L)				
Método				
Hipótesis nula	$\sigma = 106.814$			
Hipótesis alterna	$\sigma > 106.814$			
El método de chi-cuadrada sólo se utiliza para la distribución normal. El método de Bonett se utiliza para cualquier distribución continua.				
Estadísticas				
Variable	N	Desv.Est.	Varianza	
Conc. As R. Alto (ug/L)	10	18.5	341	
95% Intervalos de confianza unilaterales				
		Límite inferior	Límite inferior	
		para	para	
Variable	Método	Desv.Est.	varianza	
Conc. As R. Alto (ug/L)	Chi-cuadrada	13.5	181	
	Bonett	14.5	210	
Pruebas				
Variable	Método	Estadística de prueba	GL	Valor p
Conc. As R. Alto (ug/L)	Chi-cuadrada	0.27	9	1.000
	Bonett	-	-	1.000

Nota. Tomado de software estadístico de Minitab.

Rango de trabajo: [100 µg/L – 1000 µg/L]

4.2.8. Consolidado de resultados

Se presentan los resultados de los parámetros de validación aplicados al ensayo con cromatografía iónica, ver tabla 22.

Tabla 22

Consolidado de resultados de los parámetros de validación par el ensayo con cromatografía iónica.

Parámetro	Criterio propuesto	Criterio obtenido
Linealidad	$r(x, y) \geq 0.90$	$r = 0.9985$ Cumple
Sensibilidad	Pendiente de la curva	$b \in [0.00003364;$ $0.00003586]$
Veracidad	t-student ($p > 0.05$) Indice Z (z Score) : $ Z \leq 2 =$ Satisfactorio $2 < Z \leq 3 =$ Cuestionable $ Z > 3 =$ Insatisfactorio	t-student: $p = 0.918$, los resultados de las repeticiones son veraces al 95% de confianza $z \rightarrow 0.2534 \leq 2$ Satisfactorio
Precisión	REPETIBILIDAD: $RSD_{exp.} \leq \left(\frac{2}{3}\right) \times RSD_{Horwitz}$	$0.819 \leq 11.839$ Preciso
Límite de detección	$LDM = t_{(n-1, \alpha)} \times S_{Muestras}$	31.4 $\mu\text{g/L}$
Límite de cuantificación	$LCM \rightarrow 10 \times S_B$	100 $\mu\text{g/L}$
Rango de trabajo	---	100 $\mu\text{g/L}$ – 1000 $\mu\text{g/L}$

4.3. Comparación de las características los dos ensayos para la determinación de especies de arsénico inorgánico.

Se realiza la comparación de las características entre los dos ensayos propuestos, ver tabla 23.

Tabla 23

Comparación de las características de los ensayos para la especiación de arsénico inorgánico.

Características	Ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica	Ensayo con cromatografía iónica
Especies que separa	As ⁽⁺⁵⁾ y As ⁽⁺³⁾	As ⁽⁺⁵⁾
Límite de detección	0.32 µg/L	1.0 µg/L
Límite de cuantificación	31.4 µg/L	100 µg/L
Rango de trabajo	1.0 µg/L – 20.0 µg/L	100 µg/L – 1000 µg/L
Veracidad	veraz	veraz
Precisión	preciso	preciso
Sensibilidad	concentraciones traza	concentraciones altas
Tiempo de análisis por muestra	aproximadamente 2 horas	aproximadamente 30 minutos
Costo aproximado por muestra	aprox. 250 soles	aprox. 90 soles

4.4. Respecto a la aplicación exploratoria de ensayo determinación de especies inorgánicas de arsénico en agua de uso y consumo humano.

A continuación, detallan el monitoreo del agua de uso y consumo del Centro Poblado Montesierpe ubicado en el distrito de Humay, Provincia de Pisco, en la región de Ica y los resultados obtenidos del análisis de arsénico total y de especies inorgánicas de arsénico.

Figura 57

Reservorio de agua para uso y consumo del Centro Poblado Montesierpe.



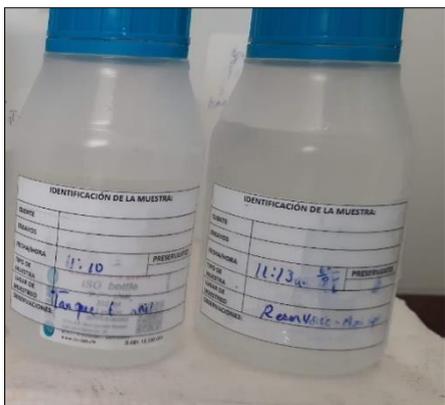
Figura 58

Toma de muestra de agua para análisis de especies de arsénico inorgánico.



Figura 59

Muestra de agua para análisis de especies de arsénico inorgánico.

**Figura 60**

Especiación de arsénico inorgánico mediante ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica.



Figura 61

Equipo de generación de hidruros (GH) / espectrometría de absorción atómica (EAA).



El resultado de arsénico total y de especies inorgánicas de arsénico se detalla en la siguiente tabla:

Tabla 24

Resultado de arsénico total y especiación de arsénico inorgánico de muestra de agua de uso y consumo humano mediante ensayo con resina de intercambio iónico.

	Análisis de arsénico total	Análisis de especies de arsénico inorgánico	
	As total ($\mu\text{g/L}$)	As ⁺³ ($\mu\text{g/L}$)	As ⁺⁵ ($\mu\text{g/L}$)
Muestra	14.6	2.6	12.1
TOTAL	14.6	14.7	

El resultado del análisis de arsénico total es de 14.6 $\mu\text{g/L}$ y la suma de los resultados del análisis de especies de arsénico inorgánico (arsenito y arseniato) es de 14.7 $\mu\text{g/L}$, lo cual indica que al comparar los resultados totales hay una recuperación de 100.9% de las especies de arsénico inorgánico con respecto al arsénico total.

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

- Los resultados de límite de detección del ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica evidencia mayor sensibilidad con respecto a trabajos anteriores que usaron metodologías similares con resina intercambio aniónico, con resultados de 1 $\mu\text{g/L}$ (Ficklin, 1983) y 2 $\mu\text{g/L}$ (Chavez, 2009) respectivamente, esto posiblemente al procedimiento de modificación de la resina de intercambio aniónico. Con respecto al límite de detección del ensayo con cromatografía iónica para el As^{+5} el resultado no difiere con el obtenido en el estudio de Chávez (2009), que obtuvo un valor de 32 $\mu\text{g/L}$, esto se explica por el uso de un detector de conductividad.
- Respecto a la linealidad los resultados fueron 0.9989 y 0.9985; estos valores son adecuados considerando que la Guía INMETRO (2003) señala que estos valores requieren un valor superior a 0.90. Según el Instituto de Salud Pública de Chile (2010), la sensibilidad es determinado por la pendiente de la recta de calibración, en el ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica tiene un rango de aceptabilidad de 0.0244 hasta 0.0258 y el ensayo con cromatografía iónica el rango es de 0.00003364 hasta 0.00003586. Ello nos indica que para el primer ensayo la sensibilidad es mayor, respecto a la cromatografía iónica y a la vez, que los límites de detección y cuantificación son mejores con el ensayo de resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica.
- La veracidad la comprobamos usando la t-student y de acuerdo con lo indicado por Konieczka y Namiesnik (2009); además, usamos el estadístico Z Score, que según la

Guía INMETRO (2003), es una forma de evaluar el rendimiento del laboratorio mediante los materiales de referencia certificados. Los resultados de “p-value” 0.948, 0.801 y 0.918, obtenidos por la prueba t-student en el software estadístico de Minitab para los dos ensayos nuevos y los valores del Índice Z (z score) 0.5861, 0.0822 y 0.2534, concluyen que los dos ensayos son veraces.

- La precisión la establecemos en términos de repetibilidad usando los mismos métodos, mismas condiciones de laboratorio y el mismo operador, en intervalos cortos de tiempo, como indica el Instituto de Salud Pública de Chile (2010) y la ISO 5727-2 (2019), la determinamos mediante la desviación estándar relativa (RSD) o coeficiente de variación (CV) que fueron 5.263%, 11.835% y 0.819% , los cuales fueron menores que el RSD de Horwitz 23.683%, 25.534% y 11.839%, respectivamente. Asimismo, según lo establecido por Konieczka y Namiesnik (2009), comprobamos mediante la Prueba Chi cuadrado que la varianza calculada para la serie de resultados no es diferente del valor establecido de forma estadísticamente significativa, por lo tanto, los dos ensayos nuevos demuestran que tienen alta precisión.
- De acuerdo al Instituto de Salud Pública de Chile (2010), se aplicó el Test Youden y Steiner para la determinación de robustez en el ensayo con resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica, con se evaluaron cuatro diferentes variables en el proceso de pre-reducción del arsénico, donde los efectos resultaron menores a la desviación estándar multiplicada por 2.24, definiendo que las variables no generan cambios para el método (poco significativas).

VI. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en la tesis de investigación nos permiten llegar a las siguientes conclusiones:

- Se implementó y validó estadísticamente el ensayo para la determinación de arsenito (As^{+3}) y arseniato (As^{+5}) en soluciones acuosas, utilizando resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica, destacando la modificación de la resina iónica, la cual inicialmente se encontraba en forma cloruro y es cambiada a forma acetato con la adición final del ácido clorhídrico para mejorar la separación de arsenito y arseniato en las soluciones evaluadas. Este ensayo demostró que este método es veraz y preciso, presentando alta sensibilidad a niveles traza.
- Se implementó y validó estadísticamente el ensayo para la determinación de arseniato (As^{+5}) en soluciones acuosas por cromatografía iónica, con un método inicialmente establecido para aniones inorgánicos, este ensayo demostró que este método es veraz y preciso, cuantificando muestras que presentan elevadas concentraciones.
- El tiempo de análisis para el ensayo por cromatografía iónica es aproximadamente 20 minutos, a diferencia del ensayo por resina de intercambio iónico acoplado a generación de hidruros-espectrometría de absorción atómica que dura aproximadamente de 2 horas y respecto al costo es más económico el ensayo por cromatografía iónica.
- La presente tesis de investigación logró implementar y validar dos ensayos para la determinación de especies de arsénico inorgánico en soluciones acuosas, demostrando ser veraces y precisos con las mejoras propuestas, el primero usado para niveles traza y

el otro para concentraciones altas. Nuestra formación como químicos nos ha permitido brindar este aporte en los ensayos analíticos para la determinación de especies de arsénico en muestras de agua, lo cual es de vital importancia para proteger la salud y el medio ambiente.

VII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda aplicar estas metodologías en matriz de aguas naturales (agua potable, superficial), para la evaluación de los posibles interferentes y si afecta en la separación de los analitos de interés (arsenito y arseniato) de las metodologías propuestas.
- Para el ensayo mediante cromatografía iónica, se recomienda el cambio de columna y/o detector para lograr una señal para el As^{+3} y para cuantificar muestras de menor rango de trabajo.
- Aplicar las metodológicas desarrolladas en el presente estudio para su aplicación matrices biológicas, tales para sangre u orina.

VIII. REFERENCIAS

- Abernathy, C. O., Liu, Y. P., Longfellow, D., Aposhian, H. V., Beck, B., Fowler, B., Waalkes, M. (1999). Arsenic: health effects, mechanisms of actions, and research issues. *Environ Health Perspect*, 107(7), 593-597.
- Alarcón, M. T., Leal, L. O., Martín, I. R., Miranda, S. V., & Benavides, A. (2013). *Arsénico en agua*. Centro de Investigación en Materiales Avanzados.
- APHA-AWWA-WEF. (2017). *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater, 23rd Edition*.
- Assis, R. C., De Araujo, B., Caldeira, C. L., Barbosa, A., De Lemos, L. R., & Rodriguez, G. D. (2019). Extraction of arsenic(III) in aqueous two-phase systems: A new methodology for determination and speciation analysis of inorganic arsenic. *Microchemical Journal*, 147, 429-436.
- ATSDR. (2007). Arsenico (As). *Resumen de Salud Pública Arsenico*.
- Bhattacharya, P., Welch, A., Stollenwerk, K. G., McLaughlin, M. J., Bundschuh, J., & Panaullah, G. (2007). Arsenic in the environment: Biology and Chemistry. *Science of the Total Environment*, 379, 109-120.
- B'Hymer, C., & Caruso, J. A. (2004). Arsenic and its speciation analysis using high-performance liquid chromatography and inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1045, 1-13.
- Camacho, L. M., Gutiérrez, M., Alarcón-Herrera, M. T., Villalba, M., & Deng, S. (2011). Occurrence and treatment of arsenic in groundwater and soil in northern Mexico and southwestern USA. *Chemosphere*, 83(11), 211-225.

- Chavez, M. (2009). Evaluación de dos técnicas analíticas para la especiación de arsénico en aguas superficiales del sur del Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 26(1), 20-26.
- Chira, J., Palomino, C., Cangalaya, L., Vargas, L., Vásquez, R., & Rodríguez, H. (2011). Geoquímica ambiental de la cuenca del río Pisco. *INGEMMET, Boletín, Serie B: Geología Económica*(24), 78.
- Díaz, M. (2018). *Desarrollo y validación de un método analítico por cromatografía iónica para la caracterización de aguas y su aplicación en muestras de aguas industriales.*, [Tesis de maestría]. Universidad de Cartagena.
- Dirección General de Salud de las Personas. (2011). RM N° 389-2011/MINSA. *Guía de práctica clínica para el diagnóstico y tratamiento de la intoxicación por arsénico*, 03-19. <http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/2109.pdf>.
- EURACHEM. (2016). La Adecuación al Uso de los Métodos Analíticos. *Una Guía de Laboratorio para Validación de Métodos y Temas Relacionados*.
- Feldmann, J., & Krupp, E. M. (2011). Critical review or scientific opinion paper: Arsenosugars—a class of benign arsenic species or justification for developing partly speciated arsenic fractionation in foodstuffs? *Anal Bioanal Chem*, 399(5), 1735–1741.
- Ficklin, W. (1983). Separation of arsenic (III) and arsenic (V) in ground waters by ion-exchange. *Talanta*, 30(5), 374-373.
- Galetovic, A., & De Fernicola, N. (2003). Arsénico en el agua de bebida: un problema de salud pública. *Revista Brasileira de Ciências Farmacéuticas*, 39(4), 365-372.

- García, S. (2013). *Estudios de especiación de arsénico y acumulación de metales en muestras de interés medioambiental*, [Tesis Doctoral]. Universidad Politécnica de Madrid.
- ICH. (2006). Harmonised Tripartite Guideline. Validation of analytical procedures: Definitions and methodology.
- INMETRO. (2003). Directrices sobre la validación de metodos de prueba química. *DQO-CGCRE-008*.
- Instituto de Salud Pública. (2010). Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: "Aspectos generales sobre la validación de métodos".
- International Organization for Standardization. (1994). *ISO 5725-1. Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results - Part 1: General principles and definitions*.
- International Organization for Standardization. (2015). *ISO 9000. Quality management systems - Fundamentals and vocabulary*.
- International Organization for Standardization. (2017). *ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories*.
- Kapaj, S., Peterson, H., Liber, K., & Bhattacharya, P. (2006). Human Health Effects From Chronic Arsenic Poisoning—A Review. *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 41(10), 2399-2428.
- Konieczka, P., & Namiesnik, J. (2009). *Quality Assurance and Quality Control in the Analytical Chemical Laboratory. A Practical Approach (5ta ed.)*. CRC Press.

- Koons, R. D., & Peters, C. A. (1994). Axial Distribution of Arsenic in Individual Human Hairs by Solid Sampling Graphite Furnace AAS. *Journal of analytical toxicology*, 18(1), 36-40.
- Krumova, K., Nikolovska, M., & Groudeva, V. (2008). Isolation and Identification of Arsenic-Transforming Bacteria from Arsenic Contaminated Sites in Bulgaria. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 22(2), 721-728.
- Lin, T. H., Huang, Y. L., & Wang, M. Y. (1998). Arsenic species in drinking water, hair, fingernails, and urine of patients with blackfoot disease. *Journal of toxicology and environmental health, Part A*, 53(2), 85-93.
- Litter, M., Armienta, M., & Farias, S. (2009). *IBEROARSEN Metodologías analíticas para la determinación y especiación de arsénico en aguas y suelos*. CYTED.
- Medina-Pizzali, M., Robles, P., Mendoza, M., & Torres, C. (2018). Ingesta de arsénico: El impacto en la alimentación y la salud humana. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*, 35(1), 93-102.
- Moreno, E. (2010). *Recuperacion de suelos mineros contaminados con Arsenico mediante fitotecnologias.*, [Tesis Doctoral]. Universidad Autónoma de Madrid.
- Morgan, A. (2001). Chapter 3. Exposure and health effects. *United Nations synthesis report on arsenic in drinking water*.
- Nava, C., & Méndez, M. (2011). Efectos neurotóxicos de metales pesados (cadmio, plomo, arsénico y talio). *Archivo de Neurociencias*, 16(3), 140-147.
- Navoni, J. A., Olivera, N. M., & Villaamil, E. (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 toxicol. Argent*, 17(2), 48-54.

Offergelt, J. A., Roels, H., Buchet, J. P., Boeckx, M., & Lauwerys, R. (1992). Relation between airborne arsenic trioxide and urinary excretion of inorganic arsenic and its methylated metabolites. *British Journal of Industrial Medicine*, 49, 387-393.

Organización Internacional de Normalización. (2019). ISO 5725-2. Exactitud (veracidad y precisión) de los métodos de medición y los resultados - Parte 2: Método básico para la determinación de la repetibilidad y la reproducibilidad de un método de medición estándar.

Palomino Cruz, J. E. (2017). *Validación de un método analítico para la valoración de Clorhidrato de Terbinafina en gel 1% por Cromatografía Líquida de Alta Performance (H.P.L.C.)*, [Tesis de postgrado]. Universidad Inca Garcilaso de la Vega.

Pamila, I. (2019). *Remoción de arsénico y flúor del agua subterránea de Chihuahua mediante hidrogeles de quitosano sintetizado con radiación gamma.*, [Tesis de maestría]. Universidad Autónoma de Chihuahua.

Peregrino, C. (2016). *Caracterización y cuantificación de las especies de arsénico presentes en acuíferos que abastecen de agua potable a la Ciudad de Chihuahua*, [Tesis de maestría]. Centro de Investigación en Materiales Avanzados, S.C.

Pérez, P. A. (2013). *Evaluación de arsénico en orina de pobladores adultos del Distrito de Ite. Tacna 2012.*, [Tesis]. Universidad Jorge Basadre Grohman - Tacna.

Pohl, P., & Prusisz, B. (2004). Ion-exchange column chromatography—an attempt to speciate arsenic. *Trends in Analytical Chemistry*, 23(1), 63-69.

- Polo, M. (2014). *Especiación de arsénico en aguas subterráneas de la Cuenca del Duero.*, [(tesis pregrado]. Universidad de Valladolid, España.
- Rahman, I., Begum, Z. A., Nakano, M., Furusho, Y., Maki, T., & Hasegawa, H. (2011). Selective separation of arsenic species from aqueous solutions with immobilized macrocyclic material containing solid phase extraction columns. *Chemosphere*, 82, 549-556.
- Ramirez, A. V. (2013). Exposición ocupacional y ambiental al arsénico. Actualización bibliográfica para investigación científica. *An. Fac. med.*, 74(3), 237-347.
- Rangel, E. A., Montañez, L. E., Luévanos, M. P., & Balagurusamy, N. (2015). Impacto del arsénico en el ambiente y su transformación por microorganismos. *Terra Latinoamericana*, 33(2), 103-118.
- Rivera, M. L. (2007). *Validacion del método de cromatografía iónica de los aniones fluoruro, cloruro, nitrato, nitrito, bromuro, fosfato, sulfato y bromatos en muestras de agua.*, [Tesis de Licenciatura]. Universidad de El Salvador.
- Saborío, L., & Higaldo, L. (Marzo de 2015). Consumo de arsénico y riesgo cardiovascular. *Medicina Legal de Costa Rica*, 32(1).
- Santini, J. M., & Vanden, R. N. (2004). Molybdenum-Containing Arsenite Oxidase of the Chemolithoautotrophic Arsenite Oxidizer NT-26. *Journal of Bacteriology*, 186(6), 1614-1619.
- Sepúlveda, R. (2009). El arsénico en la contaminación de aguas subterráneas. *Ciencia UANL*, 12(3), 239-244. <https://www.redalyc.org/pdf/402/40211814002.pdf>.

- Sigrist, M. (2009). *Metodologías combinadas de análisis en línea. Estudios de especiación de arsénico inorgánico en aguas subterráneas.*, [Tesis Doctoral]. Universidad de Buenos Aires.
- Suárez Solá, M. L., González-Delgado, F. J., González Weller, D., Rubio Armendáriz, C., & Hardisson de la Torre, A. (2004). Análisis, diagnóstico y tratamiento de las intoxicaciones arsenicales. *Cuadernos de Medicina Forense*(35), 05-14.
- Suchecky, L., Pozebon, D., Dressler, V., & Cioato, D. (2021). Method validation for As speciation in rice using LC-ICP-MS and the inorganic arsenic limit for Brazilian rice. *Journal of Food Composition and Analysis*, 99, 103849.
- Tuzen, M., Saygi, K. O., Karaman, I., & Soylak, M. (2010). Selective speciation and determination of inorganic arsenic in water, food and biological samples. *Food Chem Toxicol*, 48(1), 41-46.
- Van, D., Bakker, S. A., Amy, G. L., & Van, J. (2009). Arsenic in drinking water: a worldwide water quality concern for water supply companies. *Drinking Water Engineering and Science*, 2, 29-34.
- Vásquez, D., Bura-Zazueta, M. G., Valdés-Covarrubias, M. A., Harris, R., Harris, R., & Gutierrez-Millán, L. E. (2013). Ingesta de arsénico de agua potable en la población de Hermosillo, Sonora. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud, Biotecnia*, 15(1), 39-44.
- WHO. (2003). *World Health Organization*, Arsenic in Drinking-water.
- Xie, R., Johnson, W., Spayd, S., Hall, G. S., & Buckley, B. (2006). Arsenic speciation analysis of human urine using ion exchange chromatography coupled to inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analytica chimica acta*, 578(2), 186-194.

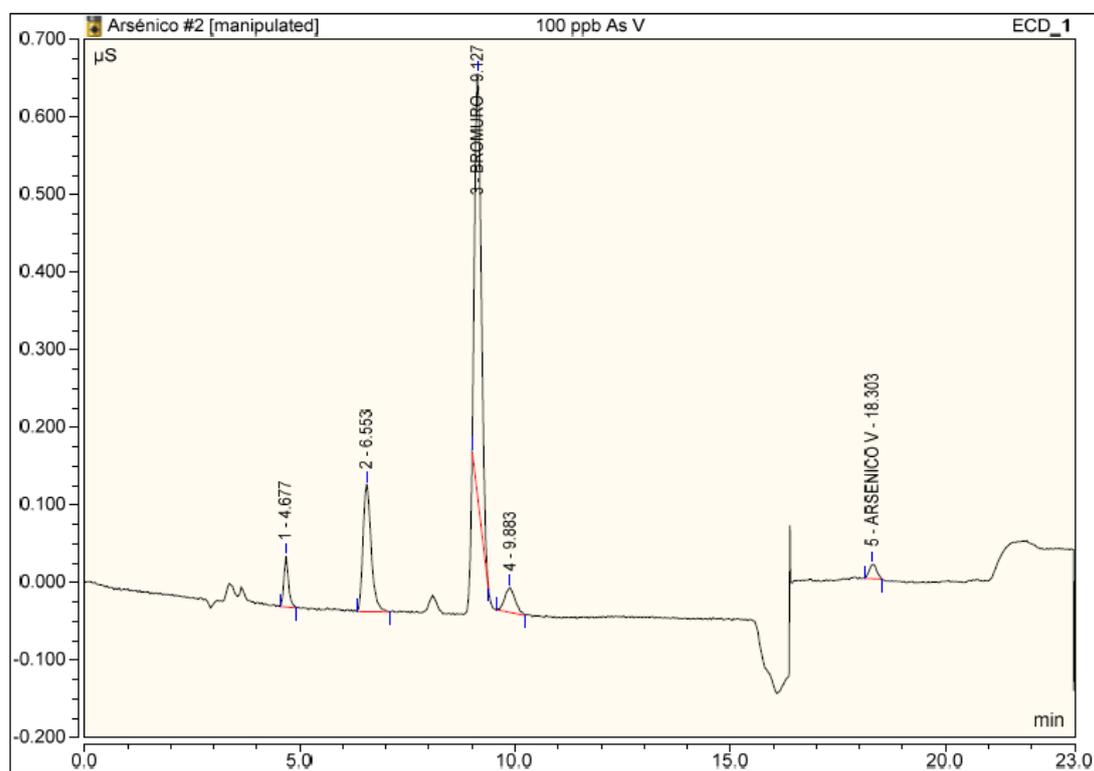
Zhang, L., Chen, X.-R., Wen, S.-H., Liang, R.-P., & Qiu, J.-D. (2019). Optical sensors for inorganic arsenic detection. *Trends in Analytical Chemistry*, 118, 869-879.

IX. ANEXOS

Anexo A

Gráfica de cromatograma de 100ppb de As^{+5}

No.	Time min	Peak Name	Peak Type	Area $\mu S \cdot min$	Height μS	Amount ppm
3	9.13	BROMURO	M	0.096	0.544	n.a.
5	18.30	ARSENICO V	BMB*	0.004	0.019	95.1465
TOTAL:				0.10	0.56	95.15

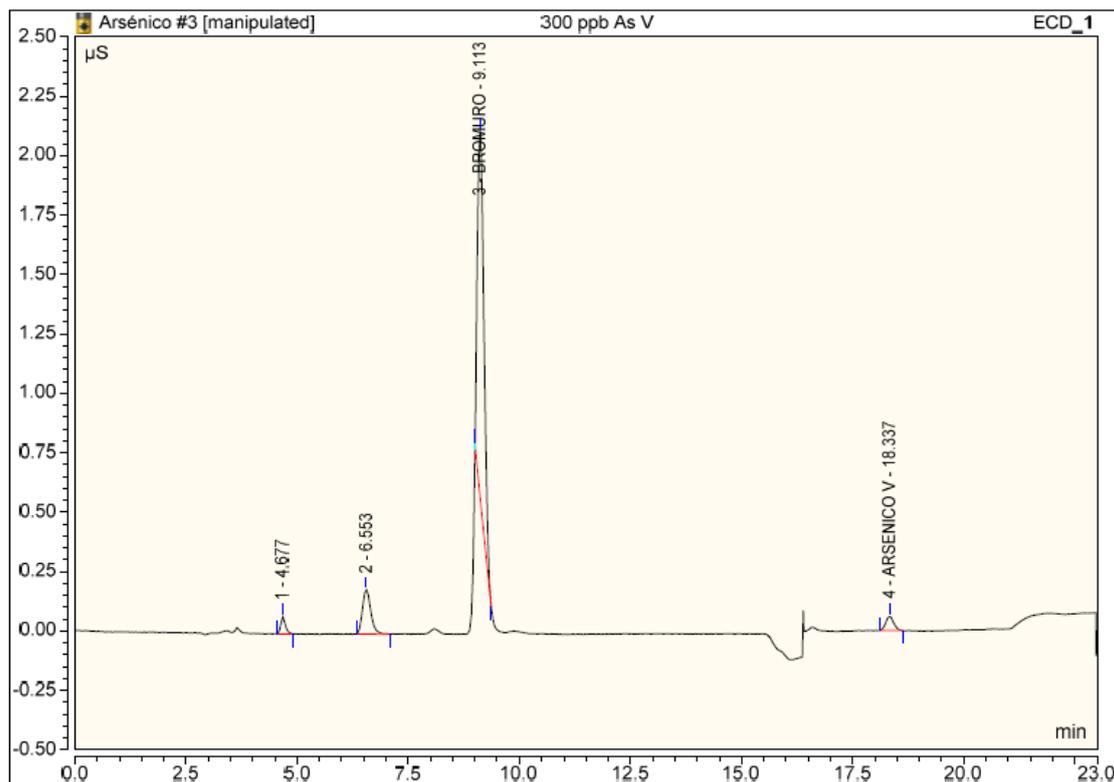


Nota. Tomado de software Chromeleon.

Anexo B

Gráfica de cromatograma de 300ppb de As^{+5}

No.	Time min	Peak Name	Peak Type	Area $\mu S \cdot min$	Height μS	Amount ppm
3	9.11	BROMURO	M	0.265	1.541	n.a.
4	18.34	ARSENICO V	BMB*	0.012	0.059	304.7692
TOTAL:				0.28	1.60	304.77

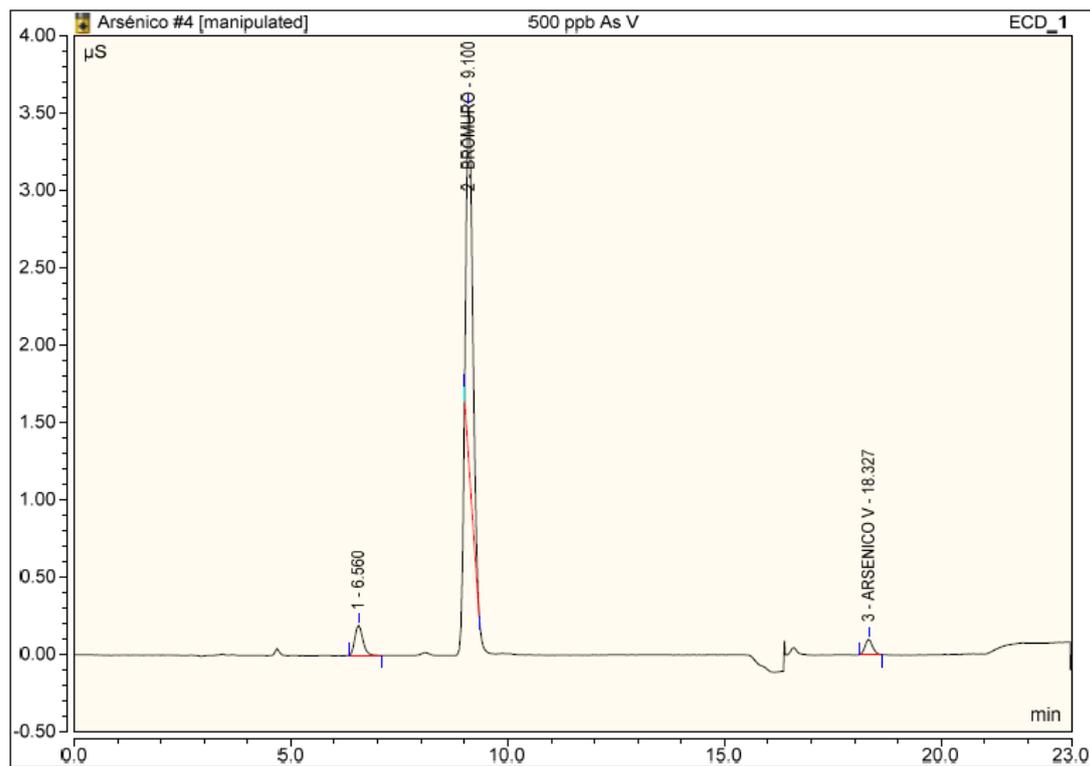


Nota. Tomado de software Chromeleon.

Anexo C

Gráfica de cromatograma de 500ppb de As^{+5}

No.	Time min	Peak Name	Peak Type	Area $\mu S \cdot min$	Height μS	Amount ppm
2	9.10	BROMURO	M	0.380	2.290	7.6696
3	18.33	ARSENICO V	BMB*	0.020	0.099	503.8031
TOTAL:				0.40	2.39	511.47

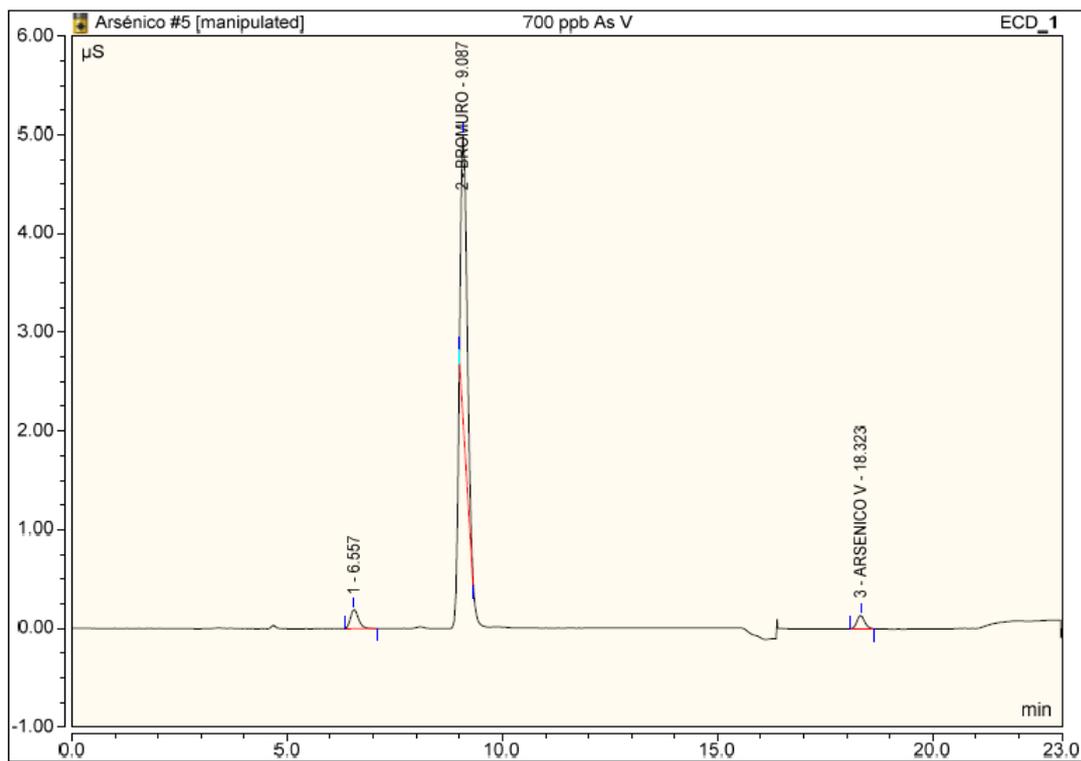


Nota. Tomado de software Chromeleon.

Anexo D

Gráfica de cromatograma de 700ppb de As⁺⁵

No.	Time min	Peak Name	Peak Type	Area $\mu\text{S}\cdot\text{min}$	Height μS	Amount ppm
2	9.09	BROMURO	M	0.470	2.893	14.2107
3	18.32	ARSENICO V	BMB*	0.028	0.136	701.5396
TOTAL:				0.50	3.03	715.75

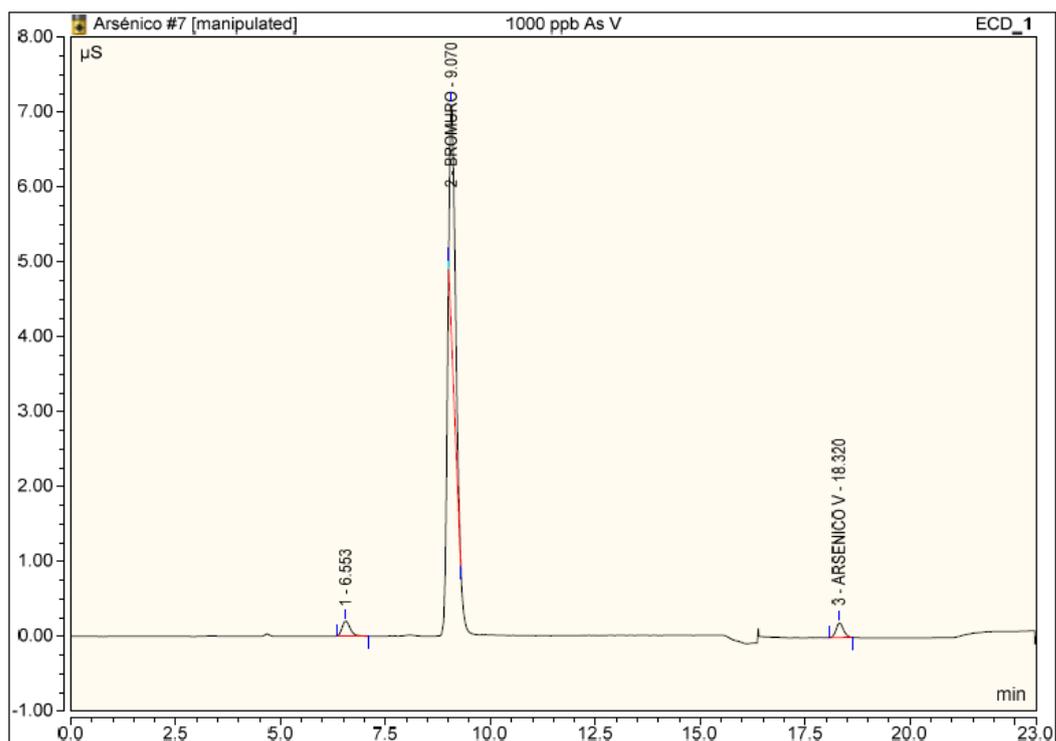


Nota. Tomado de software Chromeleon.

Anexo E

Gráfica de cromatograma de 1000ppb de As⁺⁵

No.	Time min	Peak Name	Peak Type	Area $\mu\text{S}\cdot\text{min}$	Height μS	Amount ppm
2	9.07	BROMURO	M	0.479	3.112	14.8513
3	18.32	ARSENICO V	BMB*	0.040	0.195	1008.0785
TOTAL:				0.52	3.31	1022.93



Nota. Tomado de software Chromeleon.

Anexo F

Certificado de análisis del estándar de As^{+3}

 <p>INORGANIC VENTURES 800 Technology Drive Charleston, WV 25303 - USA Tel: 304.261.1111 www.inorganicventures.com</p>	<p>CERTIFICATE OF ANALYSIS</p> <p>WE: 800.677.4774 - FAX: 304.261.3031 TEL: 304.261.3111 www.inorganicventures.com</p>
--	---

1.0 ACCREDITATION / REGISTRATION

INORGANIC VENTURES is accredited to ISO 17034, "General Requirements for the Competence of Reference Material Producers" and ISO/IEC 17025, "General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories". Inorganic Ventures is also an ISO 9001 registered manufacturer (QSR Certificate Number QSR-1034).




2.0 PRODUCT DESCRIPTION

Product Code: Single Analyte Custom Grade Solution
 Catalog Number: CGAS(3)1
 Lot Number: P2-AS3680325
 Matrix: 0.5% (v/v) HCl
 0.3% w/v NaOH
 0.08% w/v NaHCO₃
 Value / Analyte(s): 1 000 µg/mL ea.
 Arsenic+3
 Starting Material: As₂O₃
 Starting Material Lot#: 2268
 Starting Material Purity: 99.9912%

3.0 CERTIFIED VALUES AND UNCERTAINTIES

Certified Value: 1001 ± 5 µg/mL
 Density: 1.002 g/mL (measured at 20 ± 4 °C)

Assay Information:

Assay Method #1	1001 ± 4 µg/mL Iodometric NIST SRM 83d Lot Number: 83d
------------------------	--

- The Calculated Value is a value calculated from the weight of a starting material that has been certified directly vs. a National Institute of Standards and Technology (NIST) SRM/IRM. See Sec 4.2 for balance traceability.

The following equations are used in the calculation of the certified value and the uncertainty. Reported uncertainties represent expanded uncertainties expressed at approximately the 95% confidence level using a coverage factor of k = 2.

Page 1 of 4

Anexo G

Certificado de análisis del estándar de As⁺⁵


www.sigmaaldrich.com

Certificate of Analysis – Certified Reference Material

Certipur[®] Arsenic standard solution 1000 mg/l As

Product no.: 1.19773.0500
Lot no.: HC02068273
Description of CRM: Arsenic standard solution 1000 mg/l As
Expiry date: 2023/03/31
Storage: +15°C to +25°C tightly closed in the original container
Composition: H₃AsO₄ in HNO₃ 0.5 mol/l



Analyte	Certified value as mass fraction	Associated uncertainty, $U=k \cdot u$ ($k=2$) as mass fraction
As	990 mg/kg	± 5 mg/kg

Metrological traceability: Directly traceable to NIST SRM 3103a, lot 100818

Measurement method: Inductively coupled plasma optical emission spectrometry ICP-OES

Intended use: This reference material is intended for use as a calibration standard in element analysis.

Instructions for handling and correct use: Shake well before use and never pipet directly from the original container. See Details for correct use on page 2.

Health and safety information: Please refer to the Safety Data Sheet for detailed information about the nature of any hazard and appropriate precautions to be taken.

Accreditation: Merck KGaA, Darmstadt, Germany is accredited by the German accreditation authority DAkkS as registered reference material producer D-RM-15185-01-00 in accordance with ISO 17034 and registered calibration laboratory D-K-15185-01-00 according to DIN EN ISO/IEC 17025.

Certificate issue date: 2020/04/14

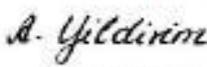


ISO 17024



ISO/IEC 17025

CRM released by Approving Officer or delegate LS-001-QS3



Dipl.-Ing. Ayfer Yildirim
Responsible Manager of LS-001-QS3
(Calibration Laboratory K-15185-01)

Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany, Tel: +49 (0)6151 75-3440
 EMD Millipore Corporation, 400 Summit Drive Burlington MA 01803, USA, Tel: +1-870-715-4321
 Sigma-Aldrich Canada Co. or Millipore (Canada) Ltd., 2140 Winston Park, Dr. Oakville, Ontario, L6H 6J6, Phone: +1 800-585-1400

Certificate Page 1 of 2
Certificate version 03
