

**Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua - León**  
**Facultad de Ciencia Químicas**  
**Carrera de Farmacia**



**A la libertad por la Universidad**

**Monografía para optar al Título de Licenciado Químico Farmacéutico.**

**Determinación de plomo en raíces de *Valeriana officinalis*, *Smilax aspera* L.  
y *Panax ginseng* mediante la marcha analítica y la biotoxicidad por  
*Allium cepa* L.**

**Autoras:**

**Br. Emilia de los Ángeles Ruíz Moreno.**  
**Br. Yadira Esperanza Salmerón Mendoza.**  
**Br. Benita de la Cruz Urbina Alvarado.**

**Tutora:**

**MSc. Gloria María Herrera**

**León, 1 Octubre de 2012**

**2012. Año del Bicentenario y Refundación de la Universidad**

## DEDICATORIA

El presente trabajo va dedicado en primer lugar a Dios Padre celestial -que sin ÉL no sería nada- por darme la vida, la salud y la fortaleza para seguir luchando por lograr mis metas e iluminar siempre mi camino.

A mis padres, Julio René Ruiz Ruiz y Cenelia Moreno, que con tanto amor y esmero estimularon a mi crecimiento como persona y ahora como profesional, por lo cual me siento orgullosa de tener unos padres tan maravillosos.

A mis hermanos, Ninoska y Bismark Ruiz Moreno por formar parte de mi vida y por brindarme su ayuda.

A la Msc. Gloria Herrera, la cual con su valiosa ayuda pedagógica, nos ayudo a orientarnos por el mejor camino y por brindarnos las herramientas necesarias para lograr la realización de esta investigación experimental.

Por último, pero no por ello menos importante a todas aquellas personas que de una u otra forma prestaron directa e indirectamente su apoyo en la culminación de éste...nuestro trabajo monográfico...

*Emilia Ruiz M.*

A Dios por haberme dado salud, sabiduría, fortaleza y proveerme de todo lo necesario para salir adelante y por todo lo que me ha dado, por no haber dejado que me rinda en ningún momento e iluminarme para salir adelante.

A mi madre Yadira Elena Mendoza Reyes haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor incondicional, te quiero mami.

A mi padre Celso Antonio Salmerón Barahona por los ejemplos de perseverancia y constancia que lo caracterizan y que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante y por su amor.

A mi hermana Cinthya Adelina Salmerón Mendoza por su amor y por compartir todo a su lado.

A mis Abuelos María Esperanza y Mario Mendoza por su amor, consejos y comprensión.

A mi esposo Francisco Gurdíán por su apoyo, cariño, comprensión y constante estímulo.

A todos mis amigos y familiares que ayudaron directa o indirectamente a la realización de trabajo.

Gracias a todos....

*Yadira Salmerón M.*

Dedico esta tesis principalmente a Dios por haberme dado sabiduría y haber permitido formarme profesionalmente.

A los seres que me trajeron al mundo Benita Alvarado y Ramiro Urbina que a lo largo de su vida han inculcado en mí el espíritu de superación, solidaridad, respeto mutuo, y convivencia humana. Así como a mis hermanas por su gran cariño y apoyo.

A los docentes quienes tuvieron la paciencia y sabiduría para transmitir sus conocimientos.

*Benita Urbina A.*

## AGRADECIMIENTOS

*A Dios.*

Padre querido, te doy gracias por ser mi primer maestro. Por siempre estar Conmigo en mis momentos difíciles, porque una de las metas que me he trazado ya la he logrado, gracias a TI, que siempre me apoyaste, que escuchaste mis oraciones y hoy hiciste realidad mi sueño de ser profesional, porque sin TI no hubiese tenido ni la sabiduría ni fortaleza suficiente para culminar esta etapa académica. *¡Gracias por siempre!*

*A mis padres, René y Cenia.*

A ellos les debo todo lo que soy, desde pequeña me enseñaron el camino del estudio como un medio de superarme como persona, me apoyaron incondicionalmente en todo lo necesario para la realización y culminación de mi carrera, no sólo en lo económico, sino también con aquellos valores positivos que me inculcaron. Gracias por ser los mejores Padres....

*A mi tío, Julio Moreno.*

Un agradecimiento especial a él, puesto que también puso su granito de arena para que pudiera realizar este trabajo, ya que significó una gran ayuda. Muchas Gracias!!!

*A nuestra tutora, Msc. Gloria Herrera.*

Por su guía, comprensión, su infinita paciencia, tiempo, entrega, confianza y valiosos consejos a lo largo del proceso de investigación.

*A mis maestros.*

Que sin ellos no hubiese tenido las direcciones y guías que ayudaron en la culminación de mi amada carrera, Farmacia.

*A mis compañeras de tesis, Benita y Yadira.*

Por su amistad, paciencia, ayuda y confianza que depositaron en mi persona.

A mis amigos y sin dejar de mencionar a mi mejor amiga, que además de ser compañeras de tesis ha sido una persona incondicional y ha estado siempre conmigo en las buenas y en las

malas; en las alegrías y tristezas y ha demostrado ser una verdadera amiga, de las cuales quedan poco, Gracias BCUA.....

*Emilia Ruiz M.*

*A Dios:*

Por haberme dado la sabiduría, salud y la fortaleza para que fuera posible alcanzar este triunfo, el entendimiento para poder llegar al final de mi carrera adelante.

*A mis padres:*

Mil gracias por el apoyo incondicional que me brindaron por todos los sacrificios que hicieron a lo largo de mi carrera, así como su comprensión y paciencia en momentos difíciles que tuvimos.

*A mi hermana:*

Por su cariño, apoyo y comprensión.

*A mis compañeras de tesis:*

Porque a pesar de todos los momentos difíciles que tuvimos pudimos salir adelante con nuestro trabajo, por su paciencia, comprensión y cariño.

*A nuestra tutora:*

Msc. Gloria por su generosidad al brindarme la oportunidad de recurrir a su capacidad y experiencia científica en un marco de confianza, afecto y amistad, fundamentales para la concreción de este trabajo.

*A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA Y FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA*

*A todos mis familiares y amigos:*

Que de una u otra manera estuvieron pendientes a lo largo de este proceso, brindado su apoyo incondicional.

*Yadira Salmerón M.*

Agradezco a Dios por darme la perseverancia necesaria para concluir este proceso. A él debo lo que soy y lo que seré mañana.

A mi familia por darme fuerza en los momentos difíciles, apoyarme y siempre confiar en mí.

A mis compañeras especialmente de Tesis que con su amistad y trabajo mutuo han hecho muy agradable la realización de este trabajo.

A la MSc. Gloria Herrera por sus excelentes directrices y consejos en la realización del presente trabajo. Así como a todas aquellas personas que de una u otra forma me ayudaron a concluir con éxito este trabajo. MUCHAS GRACIAS.

*Benita Urbina A.*

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCION.....</b>	<b>1</b>
<b>2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>	<b>5</b>
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>6</b>
<b>4. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>7</b>
<b>5. MATERIAL Y METODO: .....</b>	<b>31</b>
<b>6. PROCEDIMIENTO .....</b>	<b>35</b>
<b>7. RESULTADOS Y ANALISIS .....</b>	<b>39</b>
<b>8. CONCLUSIONES .....</b>	<b>42</b>
<b>9. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>43</b>
<b>10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>44</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>46</b>

## **1. INTRODUCCION**

Las plantas con propiedades medicinales fueron las primeras medicinas utilizadas por el hombre, se utilizan como fitofármacos y se definen como todas aquellas que contienen en alguno de sus órganos mezcla de compuestos químicos como responsable de la actividad farmacológica y que administrados en dosis suficiente, producen efectos curativos. La Organización Mundial de la Salud ha promocionado la medicina tradicional y ha dado pautas para su control de calidad de manera que estos medicamentos herbarios sean seguros y eficaces.<sup>1</sup>

Actualmente en el mercado de los medicamentos existe un creciente uso de los productos naturales como terapia alternativa para diversas enfermedades, representan cerca del 25% del total de las prescripciones medicas en los países industrializados y más del 70% de las personas en el mundo dependen de la medicina complementaria y alternativa, además, en los países en desarrollo el uso de plantas medicinales representa cerca del 80% del arsenal terapéutico y actualmente es un área de franca expansión.<sup>1</sup>

Se han notificado efectos adversos debido a la utilización de medicamentos herbarios por sobredosificación, contaminación, adulteración, etc. La contaminación natural y la proveniente de las actividades humanas hicieron necesario monitorear los niveles de metales pesados en las hierbas medicinales.<sup>2</sup>

Estos metales pueden provenir por estar en los suelos de manera natural o como resultado de fuentes antropogénicas, como por ejemplo la deposición atmosférica, uso de suelos contaminados, deposición de envases metálicos, aplicación de fertilizantes y pesticidas, así como también el uso de combustibles fósiles, fundiciones y otras técnicas que liberan metales al medio ambiente y que luego serán depositados en los suelos y en la vegetación. Tal es el caso del plomo el cual se encuentran en todas partes del medio ambiente, como por ejemplo, en el aire, en las plantas y animales de uso alimentario, en el agua potable, en los ríos, océanos y lagos, en el polvo, en el suelo, etc.<sup>1</sup>

Algunos investigadores en 1989, comprobaron que una fracción importante del plomo asimilado por las plantas proviene del polvo atmosférico; tal comprobación surgió de experiencias de irrigación con  $^{210}\text{Pb}$  para distinguir entre la asimilación de plomo a través del suelo y por deposición de plomo atmosférico en la superficie de la planta. La baja asimilación radicular de plomo ya había sido observada en otras investigaciones sobre plantas aromáticas y medicinales. Koeppel en 1977 sostuvo que el plomo permanece unido a la superficie exterior de las raíces formando depósitos cristalinos o amorfos y que puede también ser secuestrado en las paredes celulares o depositado en vesículas, lo cual explica, la elevada concentración de plomo en raíces.<sup>3</sup>

Existe una diversidad de estudios relacionados con la acumulación de plomo en los cultivos y con su fitotoxicidad. Esta última está asociada a perturbación de la mitosis, efectos en nucléolos, inhibición en la elongación de la raíz, aparición de clorosis, inhibición de actividades enzimáticas y reducción de la actividad fotosintética.<sup>3</sup>

Entre esta diversidad de estudios tenemos:

Se publicó en Brasil en el año 2003 una investigación en donde se analizaron los niveles de plomo, cadmio y mercurio luego de la digestión con ácido nítrico por espectrofotometría de absorción atómica en 10 plantas medicinales (120 muestras diferentes) Los resultados no detectaron niveles de los metales analizados en ninguna muestra de alcachofa ni guaraná (límite de cuantificación de 0,20, 0,01 y 2,0mg/kg., respectivamente). Las concentraciones de cadmio variaron entre 0,20 y 0,74 $\mu\text{g/g}$ . Sólo en muestras de hojas, frutos y cortezas se detectaron niveles de contaminación con plomo, lo que está de acuerdo con que los niveles de plomo son debidos principalmente a los depósitos aéreos o absorción de sus partes externas. Únicamente seis muestras excedieron los límites de plomo recomendados por la OMS (10mgPb/kg WHO, 1999) alcanzando en algún caso hasta 1480 $\mu\text{g/g}$ .<sup>2</sup>

En la India, en la división de medicina del Instituto de Investigación Veterinaria, se exploró la posibilidad de translocación de metales pesados hacia humanos y animales desde las

plantas medicinales. Los investigadores analizaron 28 plantas medicinales diferentes y estimaron la concentración de metales pesados. Estas plantas medicinales fueron recolectadas de la misma fuente usada por los curanderos tradicionales y fabricantes de drogas comerciales. La concentración media de plomo en estas hierbas estuvo entre 2.6ppm y 33ppm, y en cadmio entre 0.06ppm y 0.42ppm.<sup>2</sup>

Wierzbicka (1999) estudió el efecto del plomo en *Allium cepa* y otras especies vegetales, evaluando la tolerancia constitucional o inherente, basada en sistemas no específicos de desintoxicación del metal, y la tolerancia inducida, que surge como respuesta al estrés causado por un medio altamente contaminado determinando la adaptación de la especie al mismo.<sup>3</sup> Los índices de tolerancia constitucional más elevados correspondieron a *Hordeum vulgare* y *Zea mays*; las especies más susceptibles al plomo fueron *Brassica napus* (colza), *Soja hispida* (soja) y *Phaseolus vulgaris*; las especies de tolerancia intermedia fueron *Allium cepa*, *Triticum vulgare* (trigo), *Pisum sativum* (arveja), *Cucumis sativus* (pepino), *Lupinus luteus* (lupino amarillo), *Raphanus sativus* y *Secale cereale* (centeno, grano).<sup>3</sup>

Por otra parte, se determinó una correlación buena entre los pesos seco y fresco del tallo con los índices antedichos en aquellas especies en que el crecimiento de la raíz fue inhibido seriamente sin registrarse variación significativa del peso del tallo, indicando ello que el plomo no provocaría efectos en las partes superiores de la planta. En todas las especies estudiadas, más del 90% del plomo asimilado permaneció en las raíces, reteniéndose sólo entre el 2% y el 4% en el tallo; en *Allium cepa*, desarrollada a partir de bulbos, sólo un 54% permaneció en la raíz, ubicándose el 46% restante en el bulbo y las hojas.<sup>3</sup>

*La Inula viscosa* se ha utilizado durante años en la medicina popular por sus actividades, antiinflamatoria, antipirética y antiséptica. En este estudio, realizado en el 2009, han sido examinados los efectos citotóxicos y genotóxicos de los extractos de hojas de *I. viscosa* en las células de la raíz de meristemas de *Allium cepa*. Los Bulbos de la cebolla fueron expuestos a 2,5 mg / ml, 5mg/ml, y 10 mg / ml de concentración de los extractos para un

análisis macroscópico y microscópico. El agua del grifo se ha utilizado como un control negativo y Sulfato de Cobre II ( $2 \times 10^{-2}$  M) ha sido utilizado como control positivo. Las concentraciones del ensayo han sido determinadas de acuerdo a las dosis que se recomiendan para su uso en medicina alternativa. La inhibición del crecimiento de las raíces no ha sido estadísticamente significativa ( $P < 0.05$ ), puesto que depende de la concentración de los extractos en comparación con los grupos control. Todos los extractos ensayados se han observado que tienen efectos citotóxicos sobre la división celular de *A. cepa*. El extracto de la hoja *I. viscosa* induce el número total de aberraciones cromosómicas y las formaciones de micronúcleos (MNC) en células de *A. cepa* en la punta de la raíz de manera significativa en comparación con grupos control. Además, este trabajo demuestra por primera vez la inducción de la muerte de células fantasmas, las células con daño de la membrana y las células binucleadas por el tratamiento con extracto. Estos resultados sugieren los efectos citotóxicos y genotóxicos de los extractos de la hoja de *I. viscosa* sobre *A. cepa*.<sup>4</sup>

En la actualidad se ha dado un auge en el uso de la medicina popular debido a que la población la encuentra más accesible a nivel económico, sin embargo la misma no está consciente de la falta de información que certifique la eficacia terapéutica o al menos la ausencia de toxicidad, ignorando que estos productos constituyen una fuente de sustancias con actividad biológica capaces potencialmente de producir cualquier efecto indeseable, ejemplo de estos son los metales pesados, entre ellos destaca el plomo que con el transcurso del tiempo puede bioacumularse en el organismo<sup>5</sup> ocasionando intoxicaciones que pueden pasar inadvertidas tanto para el paciente como para el profesional de la salud; debido a la inexistencia de estudios acerca de este tema, nosotras como futuras profesionales encargadas de velar por la salud de la población nos alentó a determinar la presencia de trazas de plomo en raíces de *Valeriana officinalis*, *Smilax aspera l*, *Panax ginseng* analizados mediante el método cualitativo de la Marcha analítica así como en Bioensayo de Toxicidad Aguda para la determinación de minerales con *Allium cepa L*; siendo un trabajo monográfico innovador que puede servir como referencia a futuras investigaciones.

## **2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

¿Existe presencia de trazas plomo en raíces de *Valeriana officinalis*, *Smilax aspera l*, *Panax ginseng* analizados mediante el método cualitativo de la Marcha analítica así como en Bioensayo de Toxicidad Aguda para la determinación de minerales con *Allium cepa L*?

### **3. OBJETIVOS**

#### **GENERAL**

Determinar la presencia de plomo en raíces de *Valeriana officinalis*, *Smilax aspera L.* *Panax ginseng* mediante el método cualitativo de la Marcha analítica de metales así como el Bioensayo de Toxicidad Aguda para la determinación de minerales con *Allium cepa L.* Marzo 2012 – Septiembre 2012.

#### **ESPECIFICOS**

- Verificar la presencia de trazas de plomo en las raíces de *Valeriana officinalis*, *Smilax aspera L.*, *Panax ginseng* a través del método cualitativo de la marcha analítica de cationes del grupo I.
- Realizar el Bioensayo de toxicidad aguda con *Allium cepa L* mediante la evaluación de la inhibición del crecimiento promedio de raíces de cebolla.

## **4. MARCO TEÓRICO**

### **4.1. Metales pesados.**

Se llama metales a los elementos químicos situados a la izquierda y centro de la tabla del sistema periódico. Se clasifican en metales alcalinos y alcalinotérreos los elementos de los grupos IA y IIA, en metales de transición los elementos de los grupos IIIA y IVA respectivamente. Algunos elementos intermedios como el arsénico del grupo VA se estudian habitualmente junto a los metales. En todos estos grupos se encuentran metales muy relevantes desde el punto de vista toxicológico, como el mercurio, el plomo, el cadmio, el arsénico y el cromo, entre otros.<sup>2</sup>

Los elementos metálicos dan lugar a diferentes tipos de compuestos: metales en estado elemental, compuestos inorgánicos (halogenuros, hidroxilos, oxoácidos) y compuestos orgánicos (alquilos, acetatos y fenilos).<sup>2</sup>

Los compuestos inorgánicos son los componentes fundamentales de los minerales de la corteza terrestre por lo que se encuentran entre los agentes químicos tóxicos de origen natural más antiguamente conocidos por el hombre. Algunos de los metales alcalinos (sodio y potasio) y alcalinotérreos (calcio y magnesio) se encuentran en alta concentración y son cationes de extraordinaria importancia para el correcto funcionamiento celular.<sup>2</sup>

La mayoría de los oligoelementos considerados imprescindibles para el correcto funcionamiento del organismo son metálicos: hierro (Fe), cobre (Cu), manganeso (Mn), cinc (Zn), cobalto (Co), molibdeno (Mo), selenio (Se), cromo (Cr), estaño (Sn), vanadio (V), sílice (Si) y níquel (Ni). Una de las principales funciones de los oligoelementos metálicos es actuar como coenzimas formando parte de las denominadas metaloenzimas. En algunos casos, como el cinc, estabilizan estados intermedios. En otros como el hierro o el cobre en la enzima citocromooxidasa actúan como intercambiadores de electrones en reacciones redox.<sup>2</sup>

La vegetación ejerce un papel importante en la contaminación de la cadena alimenticia ya que, pueden acumular trazas de elementos tóxicos o peligrosos que pueden ser transferidos al hombre o a los animales. Los elementos traza son aquellos que se encuentran en baja concentración en el suelo o en las plantas. Existen factores que afectan la capacidad de las plantas para acumular elementos metálicos: el tipo de suelo (pH, contenido de materia orgánica, propiedades bioquímicas, sustancias químicas, contenido de minerales), la especie vegetal (unas son muy sensibles mientras que otras son muy tolerantes), el órgano de la planta y las prácticas agrícolas como la aplicación de fertilizantes o el riego con agua residual. La absorción de elementos tóxicos por parte de las plantas depende no sólo del contenido total de elementos en el suelo sino de la forma química en la que se encuentren. Entre las distintas formas químicas que los metales pueden adoptar en los suelos, la forma soluble en agua y la iónica son las únicas que caracterizan las especies móviles de metales y tienen la posibilidad de ser transferidas a las plantas.<sup>2</sup>

El cadmio, cromo y plomo son analizados en alimentos por ser tóxicos y producir efectos dañinos a la salud humana y animal, desde una simple intoxicación hasta producir la muerte.<sup>2</sup>

En ciertos medios del ecosistema, la concentración de algunos metales se puede elevar tanto que llega a constituir una contaminación, la cual puede ser de origen natural, de acuerdo a un ciclo biogeoquímico o bien puede ser una contaminación causada por una actividad humana, entonces considerada antropogénica.<sup>2</sup>

Como ha sucedido a lo largo de la historia, en la actualidad la exposición a elementos metálicos se produce de forma específica en la actividad laboral, pero además la población general entra en contacto con ellos a través del agua, los alimentos y el ambiente, donde su presencia se ha incrementado por la intervención de la actividad industrial humana.<sup>2</sup>

#### **4.2. Plomo.**

El plomo y sus derivados se encuentran en todas partes del medio ambiente, como por ejemplo, en el aire, en las plantas y animales de uso alimentario, en el agua potable, en los

ríos, océanos y lagos, en el polvo, en el suelo, etc. La concentración de plomo en plantas y animales se magnifica a lo largo de la cadena alimentaria ya que tiene la capacidad de bioacumularse.<sup>2</sup>

El plomo es liberado dentro del medio ambiente en diferentes formas químicas. La forma química del plomo determina la solubilidad en agua y los tipos de reacciones químicas que pueden suceder en la atmósfera, agua y suelo.<sup>2</sup>

#### **4.2.1. Propiedades físicas y químicas del plomo.**

El plomo elemental es un metal gris inodoro e insoluble en agua, altamente maleable, dúctil, relativamente pobre conductor de electricidad y resistente a la corrosión. Su punto de fusión es de 327<sup>0</sup>C y su punto de ebullición es de 174<sup>0</sup>C. El Plomo existe en los estados de valencia +2 y +4 y sus isótopos naturales son: 204, 206, 207 y 208.<sup>2</sup>

#### **4.2.2. Compuestos del plomo.**

Los compuestos de plomo inorgánico pueden ser encontrados en el agua y en el suelo. La cantidad de plomo en la superficie del agua depende del pH y del contenido de sal disuelto. En el medio ambiente, la forma iónica estable del plomo es Pb<sup>2+</sup>. Las formas químicas del plomo frecuentemente encontradas en el suelo son el sulfato de plomo (PbSO<sub>4</sub>) y el carbonato de plomo (PbCO<sub>3</sub>), el mismo compuesto identificado como forma primaria en la atmósfera.<sup>2</sup>

Los compuestos de plomo pueden ser divididos entre aquellos que son relativamente solubles en agua y aquellos compuestos que son relativamente insolubles en agua, basado en los siguientes criterios:

Si la constante de solubilidad (Kps) se encuentra disponible, el compuesto con mayor o igual valor de Kps que el cloruro de plomo ( $1 \times 10^{-4}$ ) es considerado soluble.

Si el Kps no se encuentra disponible, el compuesto es considerado soluble si más de 2g del compuesto se disuelven en 100ml de agua.<sup>2</sup>

El acetato de plomo ( $\text{PbC}_4\text{H}_6\text{O}_4$ ), el acetato de plomo trihidratado ( $\text{PbC}_4\text{H}_{12}\text{O}_7$ ), el cloruro de plomo ( $\text{PbCl}_2$ ), el nitrato de plomo ( $\text{Pb}(\text{NO}_2)_2$ ) y el subacetato de plomo ( $\text{Pb}_2\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_6$ ) son los compuestos de plomo con mayor solubilidad en agua. Algunos de los compuestos de plomo considerados con mayor insolubilidad en agua son: arseniato de plomo ( $\text{PbAsHO}_4$ ), azida de plomo ( $\text{PbN}_6$ ), bromuro de plomo ( $\text{PbBr}_2$ ), fluoruro de plomo ( $\text{PbF}_2$ ), fosfato de plomo ( $\text{Pb}_3\text{O}_8\text{P}_2$ ), estearato de plomo ( $\text{Pb}(\text{C}_{18}\text{H}_{35}\text{O}_2)_2$ ), sulfato de plomo ( $\text{PbSO}_4$ ), el tiocianato de plomo ( $\text{Pb}(\text{SCN})_2$ ), fluorborato de plomo ( $\text{PbB}_2\text{F}_8$ ), carbonato de plomo ( $\text{PbCO}_3$ ), cromato de plomo ( $\text{PbCrO}_4$ ), ioduro de plomo ( $\text{PbI}_2$ ), naftenato de plomo ( $\text{Pb}(\text{C}_7\text{H}_{11}\text{O}_2)_2$ ), óxido de plomo ( $\text{PbO}$ ), estifnato de plomo ( $\text{PbC}_6\text{HO}_2(\text{NO}_2)_3$ ), sulfuro de plomo ( $\text{PbS}$ ), tetróxido de plomo ( $\text{Pb}_3\text{O}_4$ ).<sup>2</sup>

Los compuestos orgánicos primarios de tetraalquilplomo como el tetraetilplomo ( $\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_5)_4$ ) y tetrametilplomo ( $\text{Pb}(\text{CH}_3)_4$ ), son utilizados como aditivos antidetonantes en el combustible para automóviles, actualmente en desuso. Los compuestos de tetraalquilplomo son insolubles en agua y están sometidos a la fotólisis y a la volatilización. Cuando son expuestos a la luz del sol se descomponen en la atmósfera a trialquilplomo y dialquilplomo y eventualmente se degradan a óxidos de plomo inorgánico. El trietilplomo y trimetilplomo son más solubles en agua que el tetraetilplomo y tetrametilplomo y por lo tanto son detectados con más frecuencia en el medio ambiente acuático. Otra fuente de plomo orgánico en agua, es la conversión de plomo inorgánico a tetrametilplomo mediante microorganismos anaeróbicos en sedimentos de lagos. En el suelo, los compuestos orgánicos de plomo como el tetraetilplomo y tetrametilplomo pueden ser convertidos en compuestos altamente solubles en agua, tal como los trialquilplomo y los óxidos de plomo.<sup>2</sup>

#### **4.2.3. Actividad antropogénica contaminante.**

La presencia abundante y esparcida de plomo en nuestro ambiente es en gran parte un resultado de la actividad antropogénica.<sup>2</sup>

El plomo puede ser usado en forma pura como metal, mezclado con otros metales o usado en compuestos químicos. Aproximadamente un 40% del plomo se utiliza en forma metálica, un 25% en aleaciones y un 35% en compuestos químicos. Se lo utiliza en la fabricación de pigmentos, recubrimientos protectores, recipientes, pilas eléctricas, etc.

Además, el plomo tiene hoy en día numerosas aplicaciones en metalurgia, como por ejemplo, en munición de armas, metal para cojinetes, cobertura de cables, plomo laminado, soldaduras, pigmentos, vidriado de cerámica y ciertos tipos de cristal. El plomo es un material excelente como protector de radiaciones ionizantes.<sup>2</sup>

Los óxidos de plomo se utilizan en las placas de las baterías eléctricas y los acumuladores ( $\text{PbO}$  y  $\text{Pb}_3\text{O}_4$ ), como agentes de mezcla en la fabricación de caucho ( $\text{PbO}$ ) y en la fabricación de pinturas ( $\text{Pb}_3\text{O}_4$ ) y como componentes de barnices, esmaltes y vidrio. El arseniato de plomo ( $\text{PbAsHO}_4$ ) y el naftenato de plomo ( $\text{Pb}(\text{C}_7\text{H}_{11}\text{O}_2)_2$ ) son utilizados como insecticidas y herbicidas; el sulfato de plomo ( $\text{PbSO}_4$ ) se utiliza en mezclas de caucho. El acetato de plomo ( $\text{PbC}_4\text{H}_6\text{O}_6$ ) tiene usos importantes en la industria química.

Al plomo se le pueden añadir otros metales como el antimonio, el arsénico, el estaño y el bismuto para mejorar sus propiedades mecánicas o químicas y, a su vez, el plomo puede añadirse a otras aleaciones, como el latón, el bronce o el acero con el fin de lograr determinadas características.<sup>2</sup>

#### **4.2.4. Contaminación natural.**

El plomo es un elemento natural que se encuentra en la corteza terrestre en cantidades traza de aproximadamente 8 a 13ppm. Existe un gran número de minerales de plomo, predominantemente como sulfuro de plomo (galena). En ausencia de la actividad humana, pequeñas cantidades de plomo alcanzarían la superficie del medio ambiente por procesos naturales para crear una exposición, que en áreas localizadas puede ser muy alta. El plomo es liberado al aire por procesos naturales tales como la actividad volcánica, los incendios forestales, el deterioro de la corteza terrestre y el decaimiento radioactivo de radón. Estas contribuciones naturales son las de menor consecuencia ya que la vasta mayoría de plomo en la atmósfera resulta de la actividad humana.<sup>2</sup>

El plomo entra al agua subterránea desde el deterioro natural de las rocas y los suelos, indirectamente de la lluvia y directamente desde fuentes industriales. Como se mencionó anteriormente en el agua los compuestos de plomo orgánico experimentan fotólisis y volatilización.<sup>2</sup>

#### **4.2.5. Existencia de plomo en el medio ambiente.**

En suelos no cultivados se han encontrado valores de plomo de 8 a 20mg/kg mientras que en superficies cultivadas pueden llegar a encontrarse valores de plomo por encima de 360mg/kg y cerca de fuentes de contaminación industrial, el suelo alcanza contenidos de plomo de 10g/kg o más.<sup>2</sup>

La eliminación de productos que contienen plomo (desechos de minerales de plomo o de actividades industriales) contribuye a la cantidad de este metal en vertederos municipales. Una vez que el plomo es eliminado, se adhiere fuertemente a partículas en el suelo y permanece en la capa superior. Es por esta razón que los usos del plomo en el pasado, por ejemplo en la gasolina, pinturas y plaguicidas han tenido un impacto tan importante en la cantidad de plomo que se encuentra en el suelo. El plomo puede permanecer adherido a las partículas del suelo o de sedimento en el agua durante muchos años mientras que pequeñas cantidades de plomo pueden entrar a ríos, lagos y arroyos cuando las partículas del suelo son movilizadas por el agua de lluvia. Esta movilización del plomo desde partículas en el suelo al agua subterránea es poco probable a menos que la lluvia que caiga al suelo sea ácida o “blanda” y depende del tipo de sal de plomo y de las características físicas y químicas del suelo.<sup>2</sup>

#### **4.2.6. Ionización del plomo y biodisponibilidad.**

Las propiedades físico-químicas del plomo y sus compuestos determinan su disponibilidad para ser absorbidos dentro del cuerpo, así como otras propiedades farmacocinéticas.

Algunas publicaciones muestran que los compuestos de plomo solubles en agua son más probables de ser absorbidos en el cuerpo que los compuestos insolubles y que las partículas de plomo inorgánico de menor tamaño son absorbidas a un grado mayor que las partículas de tamaño más grande.<sup>2</sup>

En una investigación efectuada en ratas alimentadas con plomo en la dieta, se comparó el porcentaje de absorción de plomo metálico y varios compuestos de plomo. El porcentaje de absorción fue el más bajo para plomo metálico (14%), seguido por cromato de plomo

(44%), naftenato de plomo (64%) y carbonato básico de plomo (164%), con una diferencia de 12 veces en la absorción entre el plomo metálico y el carbonato básico de plomo.<sup>2</sup>

#### **4.2.7. Toxicidad del plomo.**

La distribución del plomo en el organismo es de tipo tri o tetra compartimental según si se considera al hueso como uno o dos compartimientos (uno lábil y otro estable), en equilibrio entre ellos, con distintas vidas medias biológicas (sangre 30-50 días, tejidos blandos 30-60 días, hueso lábil 3-5 años y hueso estable 10-20 años).<sup>5</sup>

El plomo ingresa al organismo principalmente a través de los tractos digestivo y respiratorio. Para la población en general la vía principal de entrada es la alimentaria, mientras que en la exposición de carácter laboral es primordial el ingreso por la vía respiratoria. La absorción gastrointestinal depende de la solubilidad del tipo de sal de plomo y del tamaño de las partículas. Los signos y síntomas de la intoxicación por plomo orgánico difieren significativamente de los correspondientes a la intoxicación por plomo inorgánico. Los adultos no absorben por esta vía más del 20-30% de la dosis ingerida pero en los niños se alcanza hasta un 50%.<sup>5</sup>

En la sangre, la mayor parte del plomo absorbido se encuentra en el interior de los hematíes y desde aquí se distribuye a los tejidos alcanzando una concentración mayor en los huesos, dientes, hígado, pulmón, riñón, cerebro y bazo. En huesos y dientes se acumula el 95% de la carga orgánica total de plomo. El hueso es el lugar de acumulación preferido por el plomo, en substitución del calcio y, aunque no causa allí ningún problema, puede ser origen de reaparición de toxicidad crónica por movilización.<sup>5</sup>

El plomo atraviesa la barrera hematoencefálica, con mayor facilidad en los niños, y se concentra en la sustancia gris y también atraviesa la placenta. La eliminación se produce por orina y heces.<sup>5</sup>

En el caso de baja exposición al plomo, existe un equilibrio entre el aporte del tóxico y la eliminación. Pero, pasado un cierto nivel el metal comienza a acumularse. Este nivel

depende no solo del grado de exposición, sino también de la edad de la persona y de la integridad de órganos como el hígado y el riñón. El límite de concentración de plomo sin efectos biológicos ha sido fijado en 35µg/dl y han sido asociadas concentraciones altas de plomo a diferentes problemas de salud en el hombre incluyendo disfunciones del sistema nervioso en fetos y niños, hematotoxicidad, disfunción reproductiva y enfermedad de Alzheimer en adultos.<sup>5</sup>

Las manifestaciones clínicas de la intoxicación aguda por plomo son cólicos, anemia hemolítica, elevación de enzimas hepáticas, encefalopatía aguda y neuropatía. Mientras que las manifestaciones de la intoxicación crónica por plomo, llamada saturnismo, presenta cuadros de salud variados, incluyendo alteraciones orales como el Ribete de Burton, manifestaciones gastrointestinales, alteraciones hematológicas (anemia microcítica-hipocromica), parálisis motoras, encefalopatía, alteraciones renales y cólicos saturninos. Diferentes estudios epidemiológicos confirman la existencia de una estrecha relación entre niveles de plomo en sangre y aumento de la tensión arterial. Además, es bien conocido que la intoxicación por plomo conduce a anemia.<sup>5</sup>

Aunque el plomo se comporta como carcinógeno en modelos experimentales, no hay evidencia de carcinogenicidad humana. También existen casos descritos de cardiotoxicidad con aparición de miocarditis y disritmias.<sup>5</sup>

La intoxicación crónica por plomo refleja su acción en los diferentes órganos:

Sistema Nervioso Central: encefalopatía subaguda y crónica con afección cognitiva y del ánimo. La cefalea y astenia son síntomas iniciales acompañados de insomnio, irritabilidad y pérdida de la libido. También se puede producir una encefalopatía aguda si se alcanzan niveles hemáticos de plomo suficientemente altos (100 µg/dl) con ataxia, coma y convulsiones.<sup>5</sup>

Sistema Nervioso Periférico: polineuropatía periférica de predominio motor sobre todo en extremidades superiores y en el lado dominante. La afección comienza con una destrucción de las células de Schwann seguida de desmielinización y degeneración axonal.

Sistema hematopoyético: anemia con punteado basófilo en los hematíes.<sup>5</sup>

Sistema gastrointestinal: dolor abdominal de tipo cólico, anorexia, vómitos y crisis de estreñimiento alternando con diarrea.<sup>5</sup>

Riñón: el plomo se acumula en las células tubulares proximales y produce insuficiencia renal. También se asocia con hipertensión arterial y gota.<sup>5</sup>

El plomo afecta al sistema reproductor humano, tanto masculino como femenino y además la exposición al plomo es peligrosa especialmente para el neonato, ya que una exposición al plomo de la mujer embarazada puede dar lugar a un nacimiento prematuro, a niños con bajo peso al nacer, e incluso a abortos. El paso del plomo de la madre al feto se produce por un mecanismo de difusión simple, aunque algunos autores lo relacionan con fenómenos de transporte de calcio. Las concentraciones de plomo encontradas en el cordón umbilical son entre un 5 y un 10% inferiores a las plumbemias maternas, existiendo una buena correlación entre ambas. A nivel del SNC, los niños parece que son más sensibles a la encefalopatía saturnina. Sufren disminución del cociente intelectual, retrasos en el desarrollo y problemas de audición. Otros efectos tóxicos del plomo son hipertensión y enfermedades cardiovasculares en adultos.<sup>5</sup>

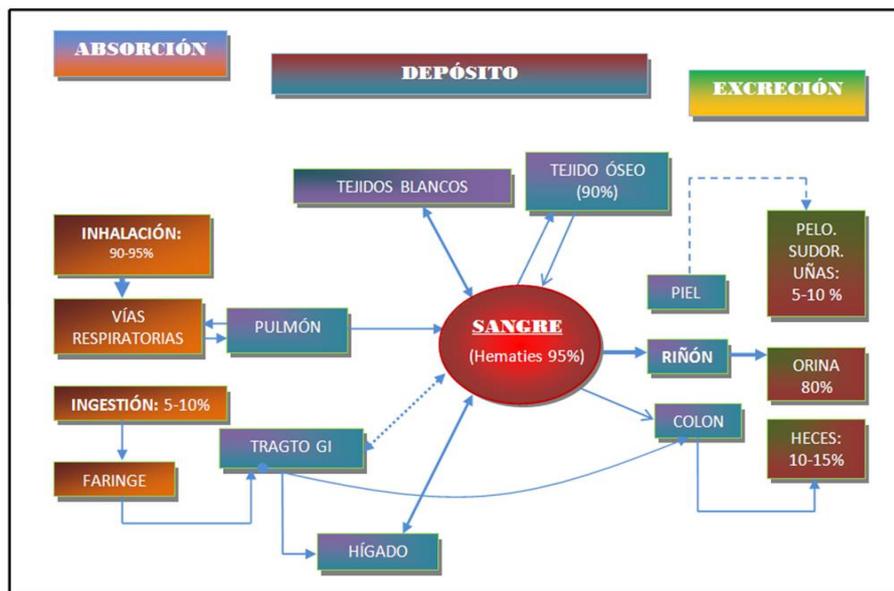


Fig. 1. Modelo metabólico del plomo en el ser humano.<sup>5</sup>

#### 4.2.8. Algunos Efectos

Está documentado que el plomo puede ocasionar daño a concentraciones bajas en sangre y que los niños son más sensibles que los adultos a sus efectos.

El daño irreversible al sistema nervioso central ocurre después de la exposición a altas concentraciones de plomo. En adultos la encefalopatía se presenta cuando las concentraciones de Pb en sangre alcanzan niveles de 120  $\mu\text{g}/\text{dL}$  o más, pero se sabe que en algunos individuos esto puede suceder con niveles de 100  $\mu\text{g}/\text{dL}$ . También se conoce que el daño al sistema nervioso periférico puede suceder cuando hay niveles de 40 a 60  $\mu\text{g}/\text{dL}$ . Está comprobado que los niños son más sensibles a la exposición al Pb que los adultos, por lo que el daño al sistema nervioso central puede ocurrir con niveles menores de 100  $\mu\text{g}/\text{dL}$ ; incluso puede ocurrir la muerte y los que sobreviven a estos altos niveles sufren retraso mental permanente.<sup>6</sup>

#### 4.3. Límites de plomo para productos de consumo.

##### 4.3.1. En agua potable.

En un principio los estándares de plomo en el agua potable se limitaban a 50 $\mu\text{g}/\text{L}$ . Como resultado de nuevos informes e investigaciones sobre exposición al plomo y sus efectos en

la salud, la concentración se estableció en 15µg/L. Mientras que la cantidad de cadmio en agua potable se limita a 5µg/L.<sup>2</sup>

La OMS estableció valores de referencia de sustancias químicas cuya presencia en el agua de potable es significativa para la salud. Los valores son de 10µg/L y 3.0µg/L para plomo y cadmio respectivamente, utilizando la ingesta semanal tolerable provisional (PTWI por **Provisional Tolerable Weekly Intake**) establecida por el comité mixto FAO/OMS de expertos en aditivos alimentarios (JECFA por **Joint Expert Committee on Food Additives**) para infantes y niños, sobre la base de que ambos metales pesados eran tóxicos y acumulativos y los infantes eran el grupo más sensible. La ingesta semanal tolerable provisional para plomo está establecida en 25µg/kg de peso corporal, equivalente a 3.5µg/kg de peso corporal por día. Para el caso del cadmio se estableció un PTWI de 7µg/kg de peso corporal.<sup>2</sup>

El Código Alimentario Argentino, en el capítulo XII, artículo 982 del año 2004 (Res MSyAS N° 494 del 7.07.94) establece en agua potable valores límite para el plomo de 50µg/L y para el cadmio de 5µg/L.<sup>2</sup>

#### **4.3.2. En drogas vegetales para uso medicinal.**

En la guía 2820/00 publicada en julio de 2001 por la Agencia Europea para la Evaluación de Medicamentos (EMA por **European Agency for the Evaluation of Medicinal Products**) se proveen métodos de análisis y criterios de aceptación para drogas vegetales. La monografía “Metales pesados en drogas vegetales y aceites grasos” de la Farmacopea Europea provee métodos analíticos para el examen de plomo, cadmio, mercurio, arsénico, níquel, cobre, hierro y cinc.<sup>2</sup>

La monografía “Fucus” de la Farmacopea Europea proporciona límites para metales pesados en drogas vegetales (10mg/kg para plomo y 4.0mg/ kg para cadmio).<sup>2</sup>

La Asociación de Fabricantes Farmacéuticos de Alemania (BAH) hizo una propuesta para límites generales derivados de una evaluación estadística de una base de datos compilada por su grupo de trabajo del área de contaminación.

En Alemania, los límites para plomo, cadmio y mercurio son aplicados para la evaluación de las hierbas medicinales, los cuales fueron publicados en un proyecto por el Ministerio de Salud de Alemania en 1991 recomendando sobre metales pesados en drogas vegetales.<sup>2</sup>

Los límites provistos por la directiva 466/2001 de la Comunidad Europea para cadmio en vegetales son equivalentes a los límites propuestos por la BAH para cadmio en hierbas medicinales. Un factor de secado de 5 debe ser aplicado para convertir los límites de alimento vegetal fresco en límites para hierbas medicinales secas.<sup>2</sup>

Un artículo divulgado por Spriewald *et al.* (1999) informa un caso de un paciente que tuvo anemia severa luego de la ingestión de algunas drogas ayurvedicas en la India. Se encontraron altas concentraciones de plomo en sangre y orina (580µg/l y 385µg/l respectivamente).<sup>2</sup>

En un artículo publicado por Chan K. (2003) se señala el riesgo que implica la ausencia de control de calidad existiendo algunos productos que pueden presentar concentraciones inusualmente altas de contaminantes que pueden conducir a casos fatales de toxicidad y de envenenamiento.<sup>2</sup>

En julio de 2004 se publicó un artículo donde se describía un total de 12 casos de intoxicación con plomo asociados al uso de diversas medicaciones ayurvedicas entre los años 2000 y 2003 en EE.UU.<sup>2</sup>

#### **4.4. Descripción, composición y actividad farmacológica de las muestras analizadas.**

##### **4.4.1. *Valeriana officinalis***

**Reino:** Plantae

**División:** Magnoliophyta

**Clase:** Magnoliopsida

**Subclase:** Asteridae

**Orden:** Dipsacales

**Familia:** Valerianaceae

**Género:** *Valeriana*

**Especie:** *V. officinalis*

Comúnmente llamada **valeriana común**, **valeriana de las boticas** o **valeriana medicinal**, es una herbácea perenne, perteneciente a la familia de las Valerianáceas.<sup>7</sup>

### **Descripción:**

Es una planta perenne muy variable con el tallo simple que alcanza los 20-120 cm de altura. Los rizomas son ovoides o cilíndricos de 3-5 cm, color gris-amarillento, cubierto por muchas raíces de pequeño diámetro, casi cilíndricas y del mismo color que el rizoma. Las hojas son pinnadas con folíolos dentados. Las flores son pequeñas de color rosa pálido, surgen en un denso corimbo terminal en primavera y verano.<sup>7</sup>

### **Composición química**

- Aceite esencial: 0,5%, de composición muy variable.
- Sesquiterpenos: los más importantes son los ácidos valerénico y acetoxivalerénico.
- Iridoides: son típicos de la valeriana y reciben el nombre de valepotriatos.<sup>7</sup>

### **Propiedades**

Es uno de los grandes fármacos para el equilibrio nervioso. Se usa mucho como sedante y calmante en el histerismo, manifestaciones neurasténicas (insomnio, neurosis, calambres abdominales (cólicos), hiperexcitabilidad, etc.), en las alteraciones menopáusicas y como antiespasmódico en sentido lato. Se emplea en trastornos convulsivos con buenos resultados, sola o asociada a anticonvulsivantes. En algunas mujeres su uso como sedante suave puede tener el efecto opuesto, provocando excitación.<sup>7</sup>

Tiene efectos psicoactivos sobre el comportamiento de los gatos, que parecen ser placenteros puestos que su olor les atrae para consumirla.<sup>7</sup>

#### **4.4.2. *Panax ginsen***

**Reino:** Plantae

**Subreino:** Tracheobionta

**División:** Magnoliophyta

**Clase:** Magnoliopsida

**Subclase:** Rosidae

**Orden:** Apiales

**Familia:** Araliaceae

**Género:** *Panax*

**Especie:** *P.ginseng*

#### **Descripción**

Es una planta pequeña herbácea de la familia Araliaceae, la raíz de la cual se utiliza tradicionalmente en la medicina china. Tiene las hojas divididas en 5 lóbulos. Las flores son de color púrpura y se disponen en umbela. Los frutos son dos drupas. La raíz es carnosa y gruesa y con el tiempo, como ocurre con otras raíces, entre ellas la mandrágora, puede adoptar una forma que recuerda a la figura humana. Las raíces que tienen más años de crianza, son más ricas en principios activos. Se desarrollan en las zonas frías y estribaciones de las montañas de China, Corea, Rusia, Japón, México y Canadá.<sup>7</sup>

#### **Composición química**

- Anaxanos, son cadenas de polisacáridos de un elevado peso molecular
- Vitaminas D y B
- Proteínas y aminoácidos
- Oligoelementos: Cu, Al, Mn, Fe,...

- Taninos
- Saponósidos triterpénicos: denominados como ginsenósidos y que tienen 14
- Heterósidos diferentes con tres tipos de agliconas:
  - Ácido oleanólico
  - Protopanaxadiol
  - Protopanaxatriol <sup>7</sup>

**Propiedades:**

Sobre todas destaca la de estimulante vasomotor y del sistema nervioso. Tiene numerosas propiedades farmacológicas como esteroide anabólico. Se usa como producto antiestrés, tónico-revitalizante, depurativo y antianémico, sin evidencia concluyente definitiva. Sería hiperglucemiante, aumentando el metabolismo de glúcidos, lípidos y proteínas. Permite controlar la presión arterial. Se le atribuyen propiedades afrodisíacas y posee propiedades anabolizantes. Estimula el Sistema nervioso central aumentan la actividad psíquica, la capacidad de concentración y disminuyen la sensación de fatiga. Protege el organismo ante las agresiones externas y sustancias tóxicas, por ejemplo, se le ha asociado a mejoras de infecciones por *Pseudomonas* en pacientes con fibrosis quística. Tiene un efecto antagonista de los depresores del SNC como el alcohol, barbitúricos y opiáceos. Produce insomnio. Puede producir nerviosismo, erecciones permanentes y agresividad. <sup>7</sup>

**4.4.3. *Smilax aspera* L.****Reino:** Plantae**División:** Magnoliophyta**Clase:** Liliopsida**Orden:** Liliales**Familia:** Smilacaceae**Género:** Smilax**Especie:** S. aspera

**Descripción:**

Liana perenne de hasta 15 m de longitud. Tallos rastreros o trepadores que crecen de un rizoma grueso, en muchas ocasiones provisto de espinas. Hojas alternas, coriáceas, verdes brillantes con formas diferentes (cordiformes, oblongas, lanceoladas u sagitadas. Siempre con la base acorazonada). A veces con espinas en el nervio central del envés o en los márgenes. Peciolos provistos de zarcillos trepadores en la base. Flores en inflorescencias parecidas a umbelas en grupos de 6 a 30. Las flores femeninas en pies distintos a las masculinas (planta dioica), todas ellas muy pequeñas y de color amarillo verdoso. Frutos en baya de color rojizo. Florece entre mayo y junio.<sup>7</sup>

**Composición química**

- Ácidos: ascórbico, esteárico, linoleico, oleico, palmítico,
- Saponinas: Esmilasaponina, esmilagenina, parrillina, sarsasaponina, sarsasapogenina, sarsaparillosido (Rizomas)
- Taninos (rizomas)
- Resina (rizomas)
- Aceite esencial.
- Colina.
- Glucósidos: sisosterol, epsilon-sitosterol (Rizomas).
- Esteroides: Betasitosterol, estigmasterol, sitosterol, pollinastanol.
- Minerales: Aluminio, calcio, cromo, cobalto, fósforo, hierro, magnesio, manganeso, potasio, selenio, silicio, sodio, zinc. (Rizomas)<sup>7</sup>

**Propiedades:**

La zarzaparrilla tiene propiedades refrescantes, aperitivas, digestivas, diuréticas, sudoríficas, depurativas, antiasmáticas, y depurativas.<sup>7</sup>

Las partes utilizadas con fines terapéuticos son sus raíces y su rizoma una especie de raíz gruesa que se ramifica abundantemente y forma largos tallos subterráneos de color marfil.<sup>7</sup>

**4.5. Métodos analíticos para la determinación de plomo****4.5.1. Marcha analítica de metales pesados.**

Una marcha analítica consiste en una secuencia de procesos químicos que selectivamente van separando las distintas especies químicas presentes en una muestra.

Su objetivo puede ser variado: extracción de un cierto elemento químico, eliminación de impurezas, o, más frecuentemente, la detección de ciertos elementos o compuestos en una muestra.<sup>8</sup>

El procedimiento experimental es el siguiente:

1. Coger un tubo de ensayo con la disolución por analizar. Esta disolución puede contener todos o algunos de los cationes de metales pesados:  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Hg}_2^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ , además de otros iones de distinta naturaleza.<sup>8</sup>
  2. Echar unas gotas de HCl 2N en el tubo de ensayo. Todos los metales pesados precipitarán en forma de cloruros (no solubles en frío) de color blanco.<sup>8</sup>
  3. Colocar un embudo con filtro (en el aro sujeto al soporte) sobre un vaso de precipitado. Decantar el contenido del tubo de ensayo sobre el filtro. Enjuagar el tubo llenándolo con agua destilada y decantando en el filtro. Los cloruros metálicos quedan retenidos en el filtro mientras que el resto de la disolución (ya sin metales) cae en el vaso de precipitado.<sup>8</sup>
  4. Calentar agua destilada en un vaso de precipitado con el mechero hasta que empiece a ebullición. Decantar el agua sobre el filtro con un vaso de precipitado limpio debajo.
- El cloruro de plomo  $\text{PbCl}_2$  es soluble en caliente pero los cloruros de mercurio  $\text{Hg}_2\text{Cl}_2$  y plata  $\text{AgCl}$  no lo son y permanecen en el filtro.<sup>8</sup>

5. Para comprobar que el plomo ha pasado a la disolución, echamos unas gotas de yoduro potásico KI en el vaso. Si existe plomo, se formará yoduro de plomo  $PbI_2$  que da un precipitado amarillo.<sup>8</sup>

#### **4.5.2. Volumetría de plomo (determinación de plomo).**

1. Obtener la muestra.
2. Pesar aproximadamente 0.25 g de muestra en un vaso de precipitado de 400 ml y se le agregan 10 ml de  $HNO_3$  químicamente puro y es importante tapar el vaso por los gases nítricos desprendidos.
3. Colocar en la parrilla a temperatura media y hervir de 5 a 10 minutos.
4. Retirar el vaso de la parrilla con las pinzas, agregar 10 ml de HCl químicamente puro y se volver a poner a hervir hasta que desaparezcan los humos.
5. Enfriar y agregar 20 ml de  $H_2SO_4$  1:1 llevándolo a temperatura alta hasta humos de  $SO_3$  aclarando la solución con unas gotas de  $HNO_3$ .
6. Continuar calentando hasta humos de  $SO_3$  aclarando la solución con unas gotas de  $HNO_3$ .
7. Continuar calentando hasta obtener reflujo de una gota a dos gotas de  $H_2SO_4$  y enfriar.
8. Añadir 100 ml de agua desmineralizada lavando tapa y paredes del vaso.
9. Añadir de 15 a 20 gotas de agua oxigenada dejando hervir durante 5 o 10 minutos a temperatura media.
10. Filtrar a través de un filtro Whatman #2 y lavar el filtro seis veces con agua desmineralizada.
11. En el vaso donde se atacó la muestra, se agregan 30 ml de solución buffer para plomo y agua desmineralizada hasta 275 ml de volumen.
12. Pasar el papel filtro con el precipitado al vaso de ataque, para disolver el  $PbSO_4$ , dejándolo hervir de 5 a 10 minutos, después añadir 10 ml de ácido ascórbico y de 3 a 5 gotas de solución xilenol orange.
13. Titular con EDTA hasta que varíe del color violeta al color amarillo.
14. Por último calculamos el porcentaje de Pb y reportar resultados.<sup>9</sup>

**4.5.3. Análisis de aleaciones por Quelatometría: aleaciones con cobre, plomo y cinc.**

Se muestra a continuación el método analítico para cuantificar los iones cinc, cobre y plomo en aleaciones a partir de la información obtenida del diseño experimental (modelo químico-matemático):

1. Pesar dos muestras de 0,1500 a 0.2000 g (depende de la composición en cinc) y transferirlas a dos erlenmeyeres de 500 ml.
  - 1.1. Digerir cada muestra con 10 ml de ácido nítrico 1:1 y si el estaño está presente adicione 2 ml de ácido clorhídrico concentrado.
  - 1.2. Eliminar los óxidos de nitrógeno por calentamiento en una vitrina de extracción.
  - 1.3. Enfriar y adicionar de 1.5 a 2.0 g de ácido tartárico, 3 ml de trietanolamina 1:1 y 0.3 g de ácido ascórbico a cada muestra y neutralizar con amoníaco 4M justo hasta la redisolución del precipitado, evitando exceso de amoníaco.
  
2. A una de las muestras adicionar 2 ml de amortiguador de pH 9-10 y tres gotas de indicador piridilazoresorcinol (PAR) al 1% (en una solución de agua-acetona 1:1).
  - 2.1. Añadir aproximadamente 200 ml de agua desmineralizada y valorar con la solución de Titriplex (III) 0.100 M.
  - 2.2. Cuando la solución tome un color manzana calentar sobre plancha a 70°C e inmediatamente continuar la valoración hasta el viraje de rojo a verde claro.

Los milimoles de Titriplex (III) consumidos corresponden a los milimoles de cinc + cobre + (plomo y/o estaño).

3. Agregar gota a gota KCN al 20% hasta el cambio a amarillo limón y entonces dejar caer 1 ml más.
  - 3.1. Valorar con una solución de nitrato de plomo 0.100 M justo al viraje de amarillo a naranja rojizo.

Los milimoles de Titriplex (III) liberados = milimoles de  $Pb^{+2}$  = milimoles de cinc + cobre.

4. Tratar la otra muestra con 2 ml de la solución amortiguadora de pH 9-10 y decolorar con la solución de KCN y adicionar 1 ml más.
  - 4.1. Añadir las tres gotas de indicador PAR.
  - 4.2. Valorar con una solución de Titriplex (III)  $2.50 \times 10^{-3}$  al cambio de rojo a amarillo intenso.

Los milimoles de Titriplex (III) corresponden a los milimoles de plomo y/o estaño.<sup>10</sup>

#### **4.6. Ensayo de toxicidad aguda con *Allium cepa L* mediante la evaluación de la inhibición del crecimiento promedio de raíces de cebolla.**

Durante las décadas de 1940 a 1960, los estudios que demostraron los efectos que producían los plaguicidas agrícolas sobre la vida silvestre, catalizaron el desarrollo de la toxicología ambiental y con ella el desarrollo de pruebas en las que, además de la mortalidad, se medían otros indicadores de importancia ecológica, tales como el crecimiento y la reproducción en organismos acuáticos y terrestres. Fue en esta época cuando se reconoció que este tipo de estudios requerían de la participación de investigadores de distintas áreas del conocimiento como son la química, la ecología, la biología y la toxicología, entre otras. El término “ecotoxicología” fue establecido por Thuhaut en 1969 como una extensión natural de la toxicología (que estudia los efectos en organismos individuales) enfocada al estudio de los efectos ecológicos de los contaminantes o bien al estudio de los efectos de los contaminantes en los ecosistemas.<sup>3</sup>

La ocurrencia de plomo en el suelo está condicionada por varios factores, entre ellos, la presencia basal asociada a las características geológicas y las fuentes de contaminación antrópica, pudiendo ser mencionadas como relevantes la minería, la fundición de plomo, la aplicación de residuos como aporte de nitrógeno y fósforo en agricultura y las emisiones de automotores.<sup>3</sup>

En las condiciones naturales del suelo el plomo está unido principalmente a silicatos; sin embargo, en suelos contaminados se lo observó asociado a fracciones orgánicas y óxidos de

hierro y manganeso. Tanto en las diversas formas salinas en que puede estar presente en el suelo o cuando está adsorbido en materia orgánica o coprecipitado con sesquióxidos, el plomo posee escasa solubilidad, lo cual limita su biodisponibilidad.<sup>3</sup>

El plomo no es un mineral esencial en la nutrición de las plantas, pero existe en el suelo y por ello se lo encuentra en trazas en los cultivos. La concentración de plomo en las plantas depende de la concentración total y disponible de aquél en el suelo, de las propiedades de este último y de la especie y edad del vegetal. Warren y Delavault (1962) señalaron que la concentración normal de plomo en las hojas y ramas de plantas leñosas es igual a 2,5 mg/kg tejido seco, mientras que para vegetales y cereales indicaron concentraciones normales comprendidas entre 0,1 y 1 mg/kg tejido seco. Por su parte, Mitchell (1963) reportó una concentración normal en pasturas del orden de 1 mg/kg tejido seco.<sup>3</sup>

Este método es una herramienta fácil y sensible para la medición de la toxicidad total causada por tratamientos de sustancias químicas. Los resultados de este ensayo se ajustan bien a una batería de pruebas compuesta por organismos procariontes y/o eucariontes.<sup>13</sup>

El ensayo con bulbos de cebolla (*Allium cepa L.*) es un bioensayo de toxicidad aguda (72 horas) semiestático (con renovación diaria de la solución de ensayo). Como punto final de evaluación de efectos fitotóxicos se cuantifica la inhibición promedio en la prolongación de las raíces del bulbo.<sup>12</sup>

#### **4.6.1. Principio**

Cuando un bulbo de cebolla (*Allium sp*) se rehidrata, se produce una estimulación del crecimiento de las células, lo cual permite la elongación de las raíces de la planta. Sin embargo, cuando la hidratación se lleva a cabo en presencia de sustancias tóxicas, la división celular de los meristemas radicales puede inhibirse, ya sea retardando el proceso de mitosis o destruyendo las células. Este tipo de alteraciones generalmente impide el crecimiento normal de la raíz y, por tanto, su elongación.<sup>11</sup>

El efecto puede determinarse en forma indirecta, mediante la comparación de la elongación de las raíces de cebollas expuestas al tóxico con las de cebollas no expuestas, luego de un periodo de 72 h de prueba. La cuantificación del efecto se realiza estableciendo el porcentaje de inhibición del crecimiento de las raíces respecto a la longitud promedio de las raíces del control.<sup>11</sup>

#### **4.6.2. Reactivos y materiales**

Bulbos de *Allium sp* (cebolla amarilla)

Para la elaboración de las pruebas se deben seleccionar bulbos de 1.5 cm de diámetro, secos y sin formación de hojas y/o raíz. Pueden ser obtenidos del mercado local o adquiridos a través de algún proveedor.<sup>11</sup>

Previo al montaje de la prueba, los bulbos deben limpiarse eliminando la epidermis seca y removiendo, con un bisturí o instrumento punzante, los restos de tejido y raíces del área radicular. No se deben dañar las raíces primordiales. Con el fin de eliminar los restos de tejidos es conveniente colocar los bulbos en agua destilada por dos horas y secar.<sup>11</sup>

#### **Medio de crecimiento**

El medio de crecimiento utilizado para el desarrollo del ensayo se indica en el Resumen de las condiciones recomendadas para las pruebas de toxicidad con *Allium cepa* L.<sup>11</sup>

La solución madre preparada de acuerdo con lo indicado se diluye diez veces con agua destilada, y el pH se ajusta a siete antes de utilizar. También se puede utilizar agua dura o agua de la llave como medio de crecimiento. En el caso de usar cualquiera de estas opciones el control negativo y el agua utilizada para preparar las diluciones de los compuestos químicos o las muestras deberá ser la misma.<sup>11</sup>

#### **Materiales**

- Tubos de ensayo de vidrio de 10 cm de largo y 1.5 cm de diámetro (o recipientes de mayor tamaño, dependiendo del tipo de bulbos a utilizar).

- Gradillas o soportes para tubos bisturí.
- Reglilla para hacer mediciones en cm o mm.<sup>11</sup>

### **Almacenamiento de los bulbos de cebolla**

Se recomienda adquirir los bulbos en vísperas de la realización de pruebas o en su defecto, almacenarlos en un lugar donde se puedan garantizar condiciones secas, y una temperatura entre 10 y 20 °C. En algunas regiones, los bulbos pueden mantenerse almacenados hasta por un año, sin embargo, en zonas geográficas donde la temperatura y humedad son altas, el almacenamiento está limitado a unos pocos días.<sup>11</sup>

### **4.6.3. Procedimiento de la prueba**

#### **Preparación de diluciones**

Generalmente se sugiere el empleo de una serie de cinco concentraciones, un control negativo y uno o dos controles positivos. Para su preparación se emplea el método de dilución en forma secuencial aplicando un factor de 0.2 o 0.3.<sup>11</sup>

Cuando se va a llevar a cabo una evaluación presuntiva puede emplearse una serie de diluciones logarítmicas, por ejemplo: 100; 10; 1; 0.1; 0.01, etc, lo cual permitirá establecer el intervalo de concentración conveniente para la determinación de la concentración inhibitoria media (CI50).<sup>11</sup>

Se recomienda igualmente utilizar agua dura para el control negativo, así como para la preparación de las diluciones de la muestra y la preparación del control positivo con el tóxico de referencia Cu (II).<sup>11</sup>

#### **4.6.4. Ensayo**

Cuando se trabaja con bulbos de diámetro pequeño, las pruebas se realizan en tubos de ensayo de 10 cm de longitud x 1.5 cm de ancho; en el caso de bulbos de mayor diámetro pueden utilizarse tubos o recipientes de mayor volumen, dependiendo del tamaño de los

mismos. Es importante destacar que la profundidad de los recipientes debe ser tal que, al término de la prueba, la elongación máxima no alcance el fondo del recipiente.<sup>11</sup>

En la prueba se utilizan cinco concentraciones de la muestra, un control negativo, y uno o dos controles positivos, cada una con doce réplicas. El ensayo se inicia con el llenado de los tubos con cada una de las diluciones y controles; este llenado deber hacerse hasta el borde del tubo. A continuación se colocan los bulbos limpios sobre la boca del tubo, cuidando que la zona radicular quede inmersa en el líquido.<sup>11</sup>

### **Ensayo de toxicidad con *Allium cepa* L.**

Los tubos se colocan en una gradilla, la cual se localiza sobre una mesa que no presente vibraciones y se mantienen a temperatura ambiente (20 °C) por un periodo de 72 horas. Debe evitarse la iluminación directa.<sup>11</sup>

Dos veces al día durante el periodo de prueba se debe restablecer el volumen perdido por evaporación o absorción. Para restablecer este volumen se utiliza la muestra o dilución correspondiente. Se recomienda inclinar el bulbo sin sacar las raíces del tubo, adicionando cuidadosamente el volumen con ayuda de una pipeta Pasteur.<sup>11</sup>

### **Resumen de las condiciones recomendadas para las pruebas de toxicidad con *Allium cepa* L.**<sup>11</sup>

1. Tipo de ensayo	Estático
2. Temperatura	20 °C; ambiente
3. Calidad de luz	Fluorescente, blanco-frío
4. Iluminación	Indirecta
5. Recipientes	Tubos de ensayo de 10 * 1.5 cm de diámetro
6. Número de réplicas	12
7. Material biológico	Bulbos de aproximadamente 1.5 cm de diámetro
8. Condición de los bulbos	Pelar los bulbos y la base, evitar dañar el anillo radicular
9. Agua de dilución	Agua de la llave, canilla o medio de crecimiento
10. Número de concentraciones	3
11. Duración de la prueba	72 h
12. Efecto medido	Inhibición de crecimiento de las raíces
13. Control negativo	Agua de la Llave o medio de crecimiento
14. Control positivo	Cobre(II) a partir de una solución de CuSO <sub>4</sub>

## **5. MATERIAL Y METODO:**

**Tipo de estudio:** El estudio es de tipo experimental siendo un experimento puro.

**Universo de estudio:** Raíces de plantas más comercializadas en los centros naturistas de la ciudad de León.

**Selección y tamaño de muestra:** Muestras de raíces de *Valeriana officinalis* (valeriana), *Smilax aspera L* (zarzaparrilla), *Panax ginseng* (Ginseng coreano) seleccionadas al azar y comercializadas en los centros naturistas de la ciudad de León.

### **Criterios de inclusión:**

- Raíces de *Valeriana officinalis* (valeriana), *Smilax aspera L* (zarzaparrilla), *Panax ginseng* (Ginseng coreano).
- Las más comercializadas en los centros naturistas de la ciudad de León.

### **Criterios de exclusión:**

- Otras plantas que no sean las anteriores.
- Menos comercializadas en los centros naturistas de la ciudad de León.
- Hojas y tallos de las plantas.

### **Método e instrumento de recolección de información:**

**Método:** Entrevista no estructurada

**Instrumento:** Para la recopilación de los datos necesarios en nuestra investigación nos fue útil llevar a cabo una entrevista no estructurada con la persona encargada de los sitios visitados de interés. Este tipo de entrevistas suelen efectuarse a manera de conversación y se conducen en entornos naturales. Su objeto estriba en dilucidar las percepciones que tiene el

informante acerca del mundo, sin que el investigador imponga su opinión acerca del tema.

**Ver anexo N°1**

**Procedimiento:**

Se visitó los diferentes centros Botánicos en la ciudad de León, se realizaron varias preguntas mediante una **entrevista no estructurada** que llevábamos sobre las raíces de las plantas más comercializadas en dichos centros, dicha entrevista se le realizó a la persona encargada del local.

**Fuentes de información:**

Fuentes primarias:

Entrevista no estructurada realizada a la persona encargada del local

**Fuentes secundarias:**

Debido a que es un tema nuevo la información se tomó de publicaciones en Revistas Científicas bajadas de **Internet**, seleccionando aquellos datos que aborden nuestro tema y teniendo en cuenta que las fuentes sean confiables.

**Variables:**

- Marcha analítica
- Bioensayo de toxicidad aguda

**-Operacionalización de las variables:**

<b>Variable</b>	<b>Concepto</b>	<b>Indicador</b>
Marcha analítica (cationes grupo I)	Proceso técnico y sistemático (una serie de operaciones unitarias), de identificación de iones inorgánicos en una disolución mediante reacciones químicas en las cuales se produce la formación de complejos o sales de color único y característico.	Cualitativo: Precipitado de color amarillo tenue.
Bioensayo de toxicidad aguda con <i>Allium cepa L.</i>	Estudio experimental para determinar los efectos adversos que pueden aparecer en un corto tiempo (usualmente dos semanas) después de una dosis única de una sustancia, o de varias dosis administradas en 24 horas.	Crecimiento de raíces Inhibición de crecimiento de raíces

**-Procesamiento y análisis de la información:** Una vez realizada la parte experimental se graficaron los resultados obtenidos utilizando los programas Microsoft Office Excel 2007, Microsoft Office Word 2007.

**MATERIALES Y REACTIVOS**

<b>Materiales:</b>	<b>Equipos:</b>	<b>Reactivos:</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Pana para baño María</li><li>• Beakers de 100 y 500ml</li><li>• Termómetro</li><li>• Cápsula de porcelana</li><li>• Balones de 250 y 1000ml</li><li>• Probeta de 100ml</li><li>• Pipetas de 1 y 5ml</li><li>• Pipeta Pasteur</li><li>• Erlenmeyers</li><li>• Gradilla</li><li>• Tubos de ensayo</li><li>• Embudo</li><li>• Soporte para embudo</li><li>• Espátula</li><li>• Pinza para cápsulas de porcelana</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Molino: Thomas- Wiley model 4</li><li>• Campana de extracción de gases</li><li>• Cocina</li><li>• Mufla</li><li>• Agitador para tubos de ensayo: Modelo: VORTEX Serie: MVOR-01</li><li>• Balanza analítica: Modelo: Sartorius Serie: TE214S</li><li>• Desecador vidrio</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Alcohol puro</li><li>• Acido clorhídrico concentrado</li><li>• Yoduro de potasio 1%</li><li>• Agua destilada</li><li>• Sulfato de cobre II 0.02 M</li><li>• Agua de llave</li><li>• Dimetil sulfóxido (DMSO)</li></ul>

## **6. PROCEDIMIENTO**

### **Obtención de las muestras:**

Dos de las muestras (*Valeriana officinalis*, *Smilax aspera L*) fueron obtenidas en su forma natural y la tercer muestra (*Panax ginseng*) procesada en forma de capsulas en los centros naturistas.

### **Lavado:**

Las raíces de *Valeriana officinalis* y *Smilax aspera L* fueron sometidas a lavado para retirar toda partícula extraña que afectara el análisis realizado.

### **Secado:**

Las raíces en estudio se secaron de forma natural (a la sombra), no exponiéndose directamente al sol durante dos semanas.

### **Molienda:**

Una vez seca las raíces se procedió a molerlas hasta obtención de aproximadamente 100g de polvo fino de cada una de las muestras.

### **Extracción:**

Se realizo una maceración alcohólica, en la cual se agregaron las muestras pesadas en beakers de 500ml hasta cubrirlas con alcohol puro, las cuales se dejaron reposar por 48 horas.

### **Filtración:**

Se filtro el contenido de los beakers hasta la obtención de los extractos ricos en sustancias activas de las raíces.

### **Evaporación del solvente:**

Cada uno de los extractos se llevó a baño María a una temperatura constante de 40°C con el fin de evaporar el alcohol obteniéndose así las muestras de forma concentrada.

**Pesada:**

Luego se peso cada una de las muestras concentradas, obteniéndose los siguientes pesos:

*Valeriana officinalis*: 7.4175g

*Panax ginseng*: 4.1338g

*Smilax aspera L.*: 5.1020g

**Obtención de cenizas:**

Se tomaron 3 g de cada extracto y se les adiciono 3 ml de acido clorhídrico concentrado a cada una de las muestras contenidas en cápsulas de porcelana; colocándose en la campana, donde se le aplicó temperatura hasta que quedara una coloración oscura y seca, tardándose dos horas y media.

Luego se colocaron en la mufla a una temperatura de 600°C por dos horas. Pasada las dos horas esperamos aproximadamente una hora para que se enfriaran, ya frías se trasladaron al desecador.

El resto de los tres extractos se utilizó para el Bioensayo de Toxicidad Aguda con *Allium cepa L.*

**Método: Marcha analítica**

Se pesó 0.25g por triplicado de cada muestra; agregándose a cada una de ellas 3 ml de agua destilada se agitaron con el agitador VORTEX, MVOR-01, dando una tonalidad para:

*Smilax aspera L.*: café;

*Valeriana officinalis*: gris;

*Panax ginseng*: rosado pálido.

Se añadió 6 gotas de HCl 2N a cada tubo de ensayo. El plomo presente en cada una de las muestras precipitó en forma de cloruro de color gris para *Valeriana officinalis*, café para *Smilax aspera L.* y blanco para *Panax ginseng*.

Se colocaron tres embudos con filtro (sostenido en un soporte) sobre tres erlenmeyers. Se decantó el contenido de los tubos de ensayos sobre los filtros. Se enjuagó los tubos llenándolo con agua destilada y vertiendo en los filtros. El cloruro de plomo quedó retenido en los filtros mientras que el resto de la disolución (ya sin el metal pesado) cae en los erlenmeyers.

Se calentó agua destilada en un beaker hasta que empezara a ebulir. Se adiciono el agua sobre los filtros con erlenmeyers limpios debajo. (El cloruro de plomo  $PbCl_2$  es soluble en agua caliente).

Para comprobar que el plomo pasó a la disolución, agregamos diez gotas de yoduro potásico KI en cada uno de los balones. La presencia de plomo se demostró por la formación de yoduro de plomo  $PbI_2$  que dio un precipitado amarillo tenue para cada una de las muestras. **(Este procedimiento se realizó tres veces).**

#### **Bioensayo de Toxicidad Aguda para la determinación de minerales con *Allium cepa L.***

1. Los cebollines fueron obtenidos en un mercado local de la ciudad de León.
2. En el laboratorio se procedió a lavarlas, secarlas y pelarlas con ayuda de un bisturí (se cortaron varias capas hasta obtener bulbos de aproximadamente 1.5cm de diámetro. Cortándose las raíces que éstas presentaban dejando el primordio central).
3. Se preparó la solución de Sulfato de Cobre II 0.02M, en un balón de 1000ml, de esta solución madre se prepararon diluciones a las siguientes concentraciones: 0.5 mg/ml, 1mg/ml y 1.5 mg/ml las cuales se aforaron en balones de 250ml.
4. Luego se prepararon soluciones de las muestras a concentraciones de 0.5mg/ml, 1mg/ml y 1.5mg/ml en balones de 250 ml.
5. En los tubos de ensayo adicionamos 20 ml de agua de la llave (control negativo), sulfato de cobre II (control positivo) y las soluciones de prueba (las tres muestras), realizando 12 replicas de cada una.

6. Colocamos los bulbos en el borde de los tubos con el fin de que el primordio quedara en contacto con las soluciones correspondientes.
7. Tomando en cuenta las condiciones del ensayo (**ver anexo N°4 Bioensayo de toxicidad con *Allium cepa L.***) durante el tiempo de prueba se rellenaron los tubos con las soluciones correspondientes ya que los bulbos absorbían dichas soluciones.

## 7. RESULTADOS Y ANALISIS

Tabla #1

Marcha analítica:

Muestra problema	¿Presencia de plomo?
<i>Valeriana officinalis</i>	Si
<i>Smilax aspera L.</i>	Si
<i>Panax ginseng</i>	Si

Debido a la naturaleza cualitativa de los procedimientos realizados, no obtuvimos ningún resultado cuantitativo. Sin embargo, debido a la presencia en las soluciones de la coloración amarilla característica, observamos la formación de precipitados de yoduro de plomo en cada una de las soluciones en estudio.

De forma cualitativa se demostró un tipo de reacción iónica y por tanto muy rápida, permitiendo la formación de un precipitado, en la cual la variación de la solubilidad es directamente proporcional con la temperatura, debido a que el yoduro de plomo (II) es un compuesto mucho más soluble en caliente que en frío.

Dicha reacción de precipitación esta dado por la siguiente ecuación:

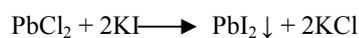
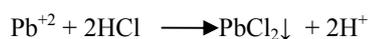


Tabla #2

Bioensayo de toxicidad aguda con *Allium cepa L* mediante la evaluación de la inhibición del crecimiento promedio de raíces de cebolla:

N° de réplicas	Crecimiento de las raíces de <i>Allium cepa L.</i> (cm)													Control negativo 1	Control negativo 2
	<i>Smilax aspera L.</i>			<i>Panax ginseng</i>			<i>Valeriana officinalis</i>			Control positivo (CuSO <sub>4</sub> )					
	Concentraciones (mg/ml)														
	0,5	1,0	1,5	0,5	1,0	1,5	0,5	1,0	1,5	0,5	1,0	1,5			
1	1.3	0.7	0.6	1	0.7	0.7	0.6	0.3	0.3	0.4	0.4	0.4	2.7	0.6	
2	1.3	1.3	1.5	0.5	1	0.6	0.7	0.3	0.2	0.4	0.5	0.3	2.4	0.4	
3	1.2	1.1	0.3	0.9	0.4	1	1.4	0.5	0.4	0.5	0.3	0.2	2.5	0.5	
4	1.2	1.2	0.5	0.6	0.5	0.5	0.9	0.4	0.3	0.4	0.3	0.3	2.6	0.3	
5	1.1	1	0.4	0.8	1.1	0.4	0.8	0.6	0.5	0.7	0.4	0.3	2.8	0.3	
6	0.9	1	0.7	1.5	0.9	0.5	0.6	1	0.2	0.5	0.3	0.4	2.9	0.5	
7	1.1	1.2	0.6	1.1	0.8	0.3	1.2	0.7	0.4	0.5	0.5	0.2	3	0.6	
8	1	0.9	0.5	0.8	1	0.6	1.1	0.8	0.6	0.7	0.4	0.3	3	0.7	
9	1.4	0.7	0.6	0.9	1	1	0.9	0.3	0.2	0.5	0.3	0.4	2.6	0.4	
10	1.1	1.1	1	1.2	0.9	0.3	1.3	0.5	0.5	0.6	0.2	0.4	2.5	0.3	
11	1	0.8	0.9	0.7	0.7	0.3	0.8	1	0.3	0.7	0.4	0.2	2.8	0.6	
12	1.4	1.3	0.8	1	1.1	0.8	0.7	0.7	0.3	0.7	0.3	0.2	3.1	0.5	
Prom	1.167	1	0.7	0.9	0.8	0.6	0.9	0.6	0.4	0.6	0.4	0.3	2.74	0.5	

En este estudio se evaluó la presencia de plomo en los extractos de las raíces de *Valeriana officinalis*, *Smilax aspera L* y *Panax ginseng* mediante la inhibición de crecimiento de las raíces de *Allium cepa L*.

Se utilizó como control negativo agua de grifo de distinta procedencia, tanto del laboratorio como de una casa de habitación; debido a la desconfianza en el uso del agua de grifo del laboratorio de la facultad de CCQQ (las cuales corresponden a una infraestructura de muchos años y a la exposición de éstas a los distintos reactivos usados) evitando así resultados erróneos.

Los resultados de esta prueba demuestran que en las concentraciones de 0.5, 1.0 y 1.5 de los extractos de las plantas en estudio causan importante inhibición del crecimiento de las raíces de *Allium cepa L*. en comparación con el control negativo 1. La inhibición de crecimiento de las raíces fue mayor con el aumento de las concentraciones de los extractos.

La longitud promedio medida de las raíces en el control negativo 1 (agua de grifo-casa de habitación) fue de 2.74 cm y 0.5cm en el control negativo 2 (agua de grifo-laboratorio), observándose una diferencia significativa entre ambos grupos, comprobando de esta manera la presencia de plomo en el agua del laboratorio (control negativo 2).

En los valores de los extractos de *Smilax aspera L* observamos que obtuvo los promedios más altos en cuestión de crecimiento de la raíz (*Allium cepa L*) en comparación con las demás muestras analizadas, por el contrario los extractos de *Valeriana officinalis* mostraron una mayor inhibición de la elongación de dichas raíces y los valores obtenidos se aproximan a los valores del grupo control positivo.

Relacionando estos resultados con los obtenidos de la Marcha Analítica en las que la coloración amarillenta presente en el precipitado de la *Valeriana officinalis* fue más pronunciada, se presume una mayor presencia de trazas de plomo en el extracto de esta planta.

## 8. CONCLUSIONES

Después de haber obtenido y analizado los resultados en el presente estudio concluimos que:

En relación a la Marcha analítica, las muestras en estudio presentaron trazas de plomo debido al cambio de color (evidenciándose así una contaminación que podría resultar de la actividad antropogénica o natural); para confirmar la presencia de esta sustancia toxica se procedió a realizar el Bioensayo de toxicidad aguda con *Allium cepa L.*, el cual provocó la inhibición de la división celular de los meristemos radiculares, lo cual impide el crecimiento normal de la raíz de *Allium cepa*, y por tanto su elongación.

En el presente trabajo se demostró, que el Plomo afecta considerablemente el crecimiento de la raíz, este efecto es muy pronunciado cuando se exponen los bulbos de *Allium cepa L.* a concentraciones mayores de 1.5 mg/ml, por lo tanto podemos decir que el grado del efecto tóxico está en relación directa con la concentración de plomo.

Es un método que por primera vez es realizado en el país y en la Facultad de CCQQ de la UNAN-León, por lo tanto resulta ser un método innovador, simple, sensible accesible y reproducible.

Los resultados de este estudio evidencian que a pesar de que las raíces en estudio tienen efectos beneficiosos como una hierba medicinal, puede causar graves problemas y daños en las células cuando se usan frecuente e incorrectamente.

## **9. RECOMENDACIONES**

Antes de finalizar, deseamos sugerir algunas recomendaciones en base a los resultados y las conclusiones a que se llegó luego del presente estudio:

1. Se sugiere a futuras generaciones farmacéuticas poner interés en este tema monográfico, el cual es de importancia a nivel social, puesto que en nuestra tesis demostramos la presencia de plomo en los productos de origen natural en estudio.
2. Se recomienda seguir realizando estudios de identificación de metales pesados en productos naturales, ya que este método es accesible a nivel económico.
3. Se recomienda implementar otros métodos analíticos en los que además de llevar a cabo la identificación cualitativa de metales pesados se pueda desarrollar la cuantificación de los mismos.
4. Se propone a las autoridades encargadas de desarrollar el plan académico incorporar en el área de Botánica Farmacéutica y Farmacognosia practicas en donde se realicen bioensayos para la detección de metales pesados.
5. Por medio de las prácticas comunitarias dar a conocer a la población los riesgos de una mala utilización de las plantas medicinales, explicándoles que estas pueden constituir una fuente de contaminantes.
6. Se sugiere una mayor intervención por parte de la Dirección General de Regulación de Medicamentos del MINSA vigilar periódicamente la calidad de los productos naturales comercializados.

## 10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Álvarez, Alejandra, et al. (2003). *Cuantificación de plomo y mercurio en productos naturales con fines terapéuticos comercializados en Venezuela*. Recuperado el 21 de marzo de 2012, de <http://www.cadperu.com>
2. Muñoz, Nicolás M. (2009). *Determinación de plomo y cadmio en hierbas medicinales*. Recuperado el 22 de marzo de 2012, de [http://www.ub.edu.ar/investigaciones/tesinas/275\\_Tesina%20Munoz.pdf](http://www.ub.edu.ar/investigaciones/tesinas/275_Tesina%20Munoz.pdf)
3. República Argentina, Subsecretaria de Recursos Hídricos de la Nación (2005) *Desarrollos de niveles guía nacionales de calidad de agua ambiente correspondientes a plomo*. Recuperado el 5 de mayo de 2012 de <http://www.pnuma.org/agua-miaac/.../PONENCIAS/.../plomo.pdf>
4. Aşkin Çelik, Tülay y Sultan Aslantürk, Özlem (2009). *Evaluation of Cytotoxicity and Genotoxicity of Inula viscosa Leaf Extracts with Allium Test*. Recuperado el 3 de Julio de 2012 de <http://www.hindawi.com/journals/jbb/2010/189252/>
5. Ramírez, Augusto V. (2005). *El cuadro clínico de la intoxicación ocupacional por plomo*. Recuperado el 21 de marzo de 2012, de <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v66n1/a09v66n1.pdf>
6. Rivera A., Lesvia M. (2004). *Daño neurológico secundario a la intoxicación por plomo en niños*. Recuperado el 22 de marzo de 2012, de <http://www.ejournal.unam.mx/rfm/no47-4/RFM47406.pdf>
7. Hall Ramírez, Victoria, et al. (2002). *Monografía de plantas medicinales*. Recuperado el 14 de abril de 2012, de <http://www.sibdi.ucr.ac.cr/CIMED/cimed27.pdf>
8. Fundamentos de química (2000). *Práctica 8: disolución reguladora de pH analítica de metales pesados*. Recuperado el 25 de junio de 2012 de <http://www.upo.es/depa/webdex/quimfis/docencia/.../FQpractica8.pdf>
9. Arévalo R., Jesús. (1998). *Reporte técnico*. Recuperado el 10 de abril de 2012, de <http://www.html.rincondelvago.com/reporte-tecnico.html>

10. Clavijo Díaz Alfonso (1995). *Análisis de aleaciones por quelatometría*. Recuperado el 21 de marzo de 2012, de <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim/article/.../17123>
11. Díaz Baez, M.; Ronco, A. y Pica Granados, Y. (2004). *Ensayo de toxicidad aguda con Allium cepa L mediante la evaluación de la inhibición del crecimiento promedio de raíces de cebolla*. Recuperado el 23 de abril de 2012, de [http://www.web.idrc.ca/en/ev-84463-201-1-DO\\_TOPIC.html](http://www.web.idrc.ca/en/ev-84463-201-1-DO_TOPIC.html)
12. Red Internacional Watertox. (2000). Recuperado el 3 de Julio del 2012: Disponible en URL: <http://www.idrc.ca/lacro/bioensayos/manual.html>
13. Fiskesjö, G. (1993). *Technical Methods Section. Allium test I: A 2-3 day plant test for toxicity assessment by measuring the mean root growth of onions (Allium cepa L.)*. *Environm Toxicol and Water*. Recuperado el 28 de septiembre de 2012. 461-470

# ANEXOS

**Anexo N°1**

**Entrevista no estructurada:**

-Saludo.

Somos estudiantes de la carrera Farmacia de la UNAN-León, estamos realizando nuestro trabajo monográfico, pedimos su colaboración y disposición para atendernos.

Preguntas:

-¿Comercializan productos naturales a base de raíces?

-Nos puede hacer mención de dichos productos.

-¿Cuáles son los de mayor demanda por la población?

(Muestra del producto)

-¿Cuál es su valor?

-Despedida

**Anexo N°2**

**Preparación de reactivos:**

**Ácido clorhídrico 2N:**

1. Se midió 1.51 ml de ácido clorhídrico.
2. Luego se adicionó en un balón de 25 ml, el cual ya contenía una pequeña cantidad de agua destilada y se agitó suavemente.
3. Por último se aforó con agua destilada.

**Yoduro de potasio 1%:**

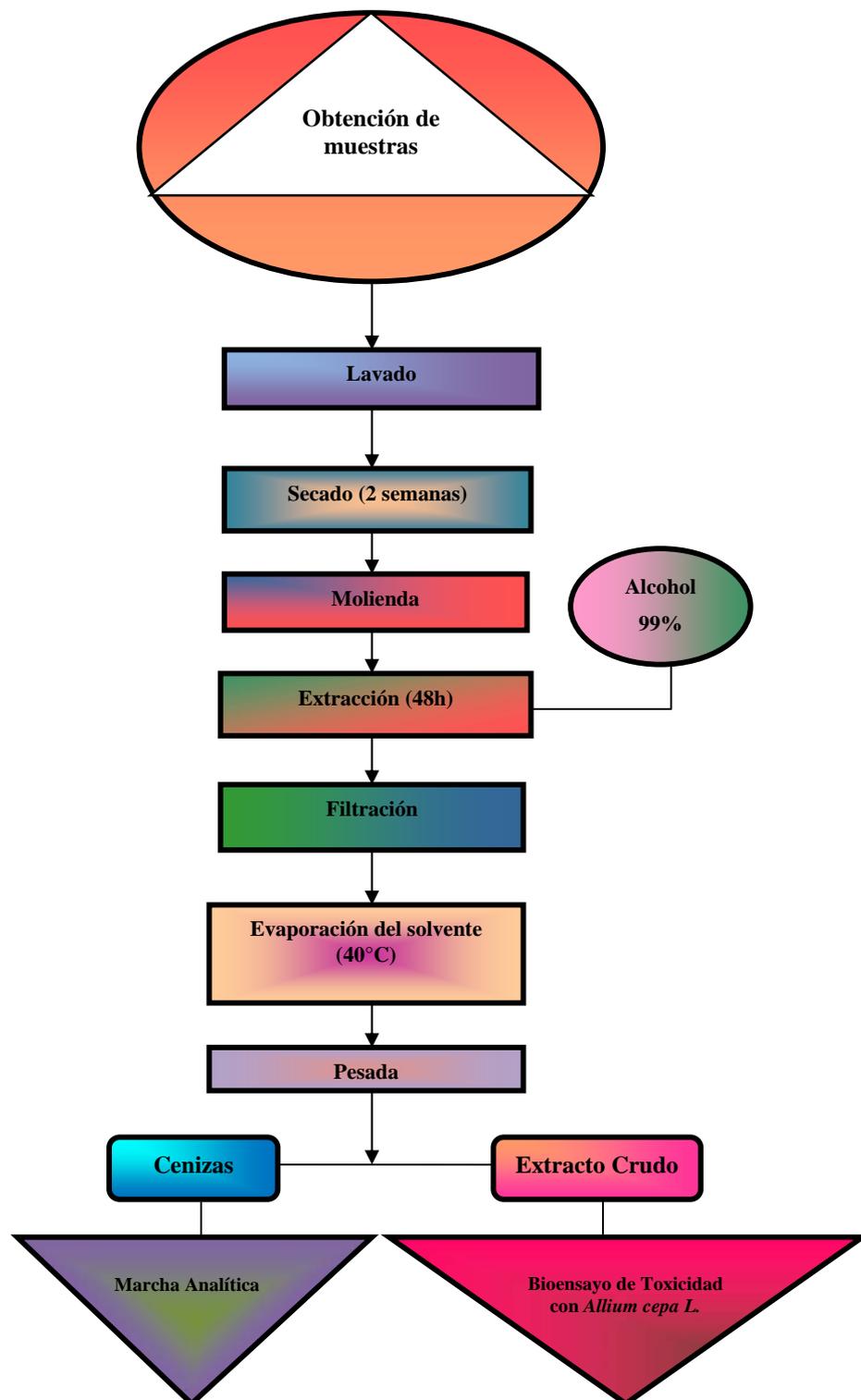
1. Se pesó 0.25 gramos de yoduro de potasio.
2. Se llevó a un balón de 25 ml y se aforó con agua destilada.

**Sulfato de cobre II 0.02 M:**

1. Se pesó 3.192 gramos.
2. Posteriormente se traspasó a un balón de 1 litro.
3. Se aforó con agua destilada y se agitó.

Anexo N°3

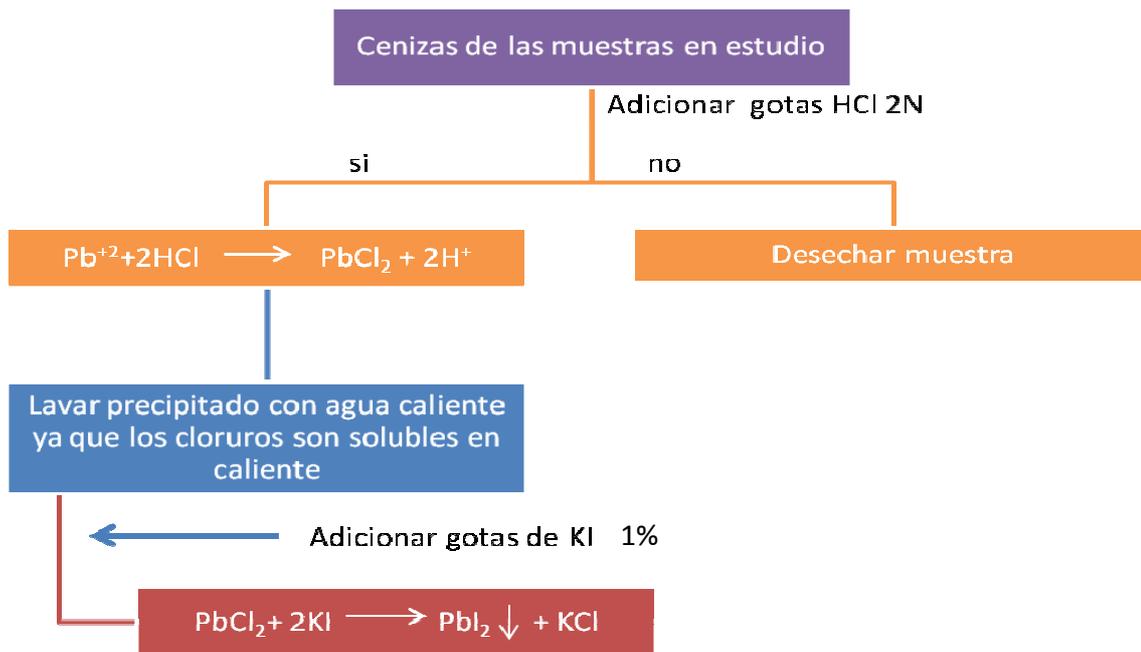
PROCEDIMIENTO PREVIO AL ANALISIS DE LAS MUESTRAS



Anexo N°4

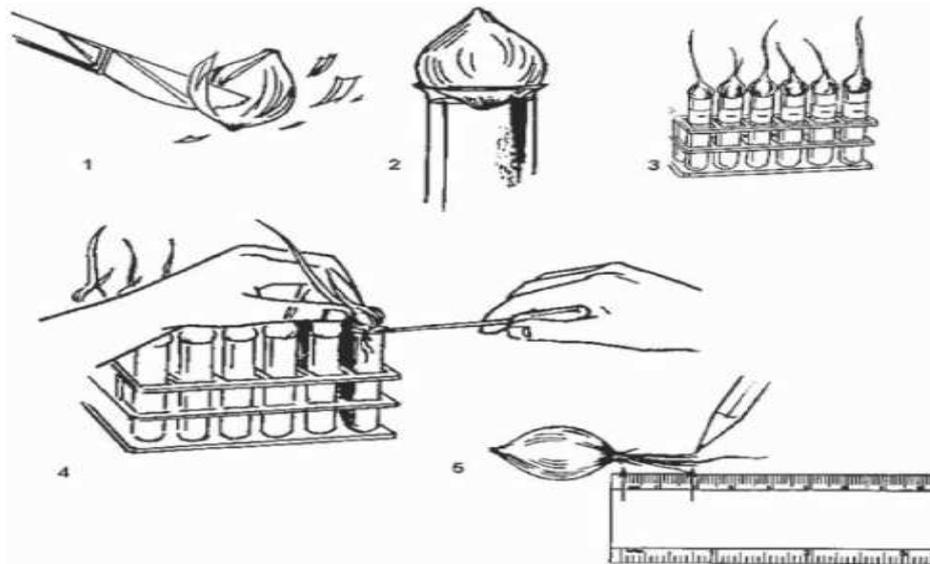
PROCEDIMIENTO:

Marcha Analítica



**Bioensayo de Toxicidad Aguda para la determinación de minerales con *Allium cepa* L.**

**Esquema gráfico de los pasos a seguir en la prueba con *Allium cepa*.**

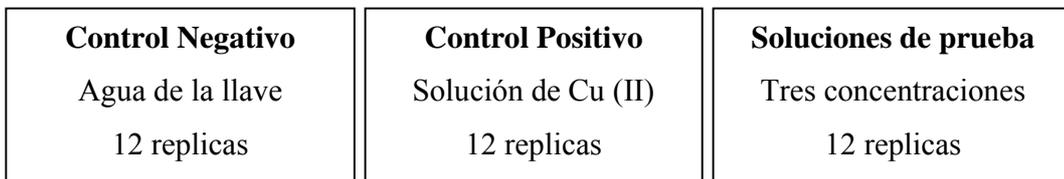
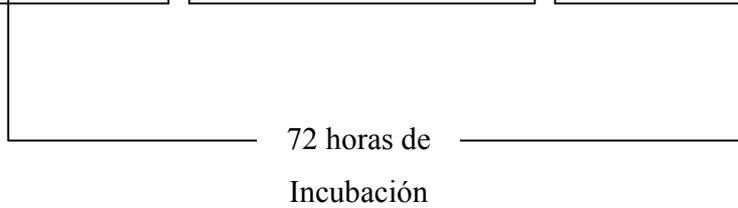
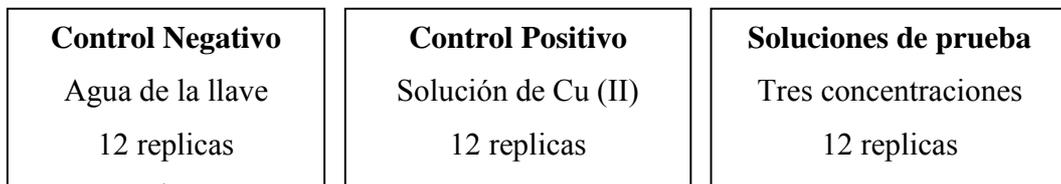


1) Limpieza y pelado de bulbos, 2) ubicación de bulbos en tubos para exposición a las soluciones de ensayo, 3) colocación de tubos en soporte, 4) agregado de soluciones a tubos durante el ensayo, 5) medición de longitud de raíces al finalizar el tiempo de exposición de los bulbos.

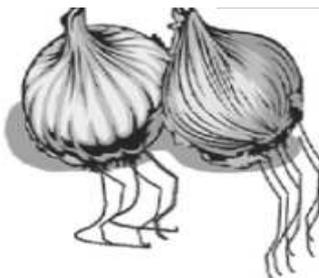
Bioensayo de toxicidad con *Allium cepa L.*



Condiciones de la prueba		
<b>Temperatura</b>	<b>Iluminación</b>	<b>Volumen de prueba</b>
T° ambiente	indirecta	15-20ml
<b>Tiempo de prueba</b>	<b>Control positivo</b>	
72h	Cu (II)	



Disminución de las longitudes de Las raíces  
Medición de elongación.



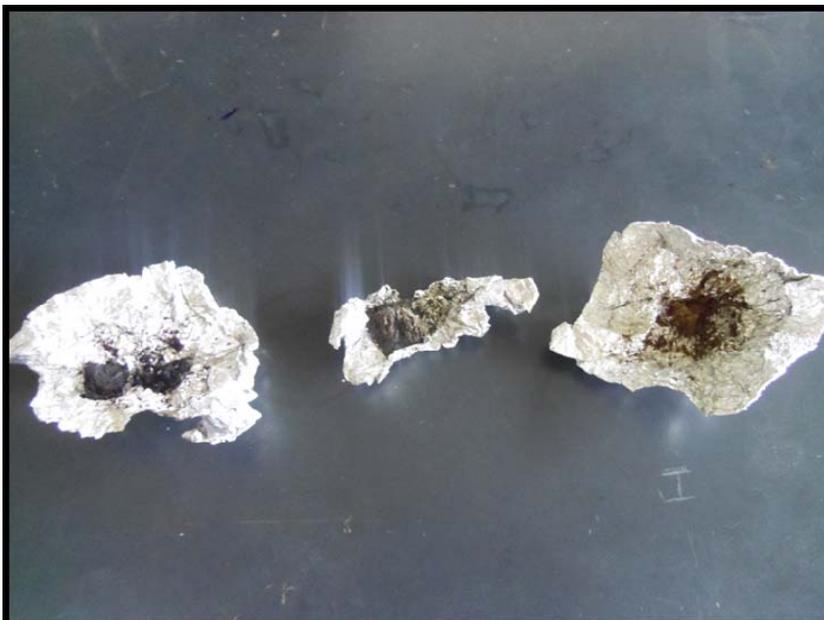
Cálculo del promedio de inhibición del crecimiento de las raíces

Anexo N°5

Imágenes de las distintas etapas del procedimiento.



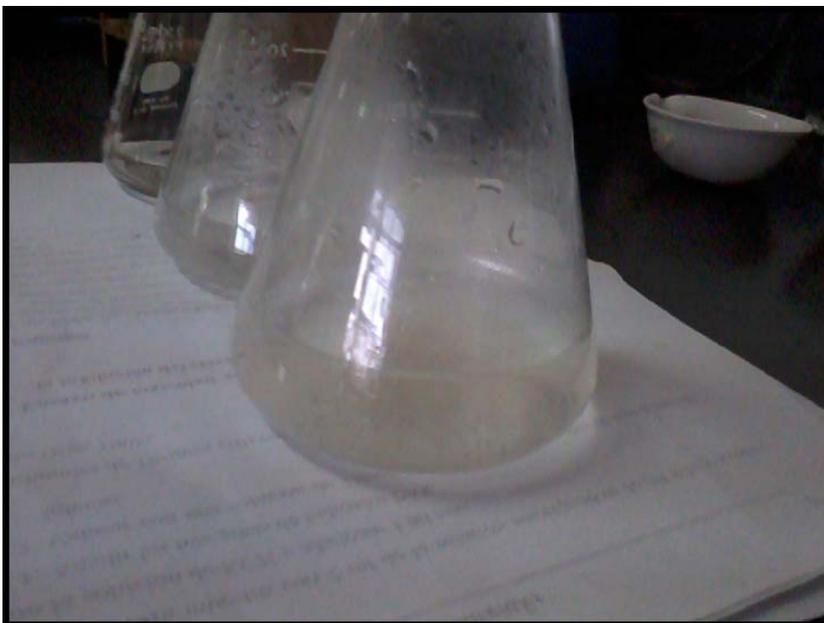
**Fig.1** Extracto alcohólico de una de las muestras (*Smilax aspera L.*).



**Fig.2** Extractos de *Panax ginseng*, *Valeriana officinalis* y *Smilax aspera L.* respectivamente (de izquierda a derecha).



**Fig.3** Obtención de cenizas de las muestras en la Mufla.



**Fig.4** Resultados Marcha analítica.



**Fig.5** Resultados Marcha analítica.



**Fig.6** Solución de Sulfato de cobre (II).



**Fig.7** Diluciones de *Panax ginseng*.



**Fig.8** Diluciones de *Valeriana officinalis*.



Fig.9 Diluciones de *Smilax aspera* L.



Fig.10 Montaje del Bioensayo de toxicidad con *Allium cepa* L.



**Fig.11** Veinticuatro horas después de haber montado el bioensayo.



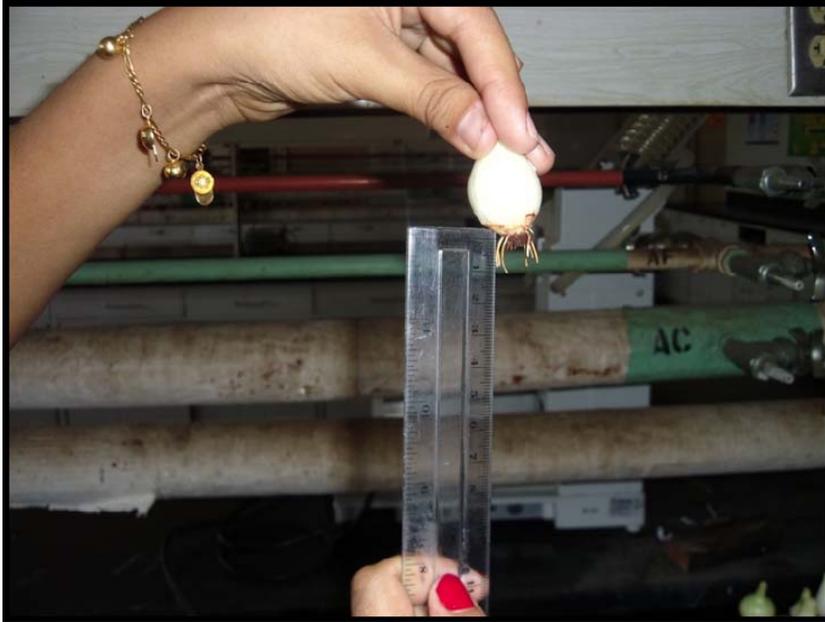
**Fig.12** Rellenado de los tubos con las soluciones respectivas.



**Fig.13** Cuarenta y ocho horas después de haber montado el bioensayo.



**Fig.14** Setenta y dos horas después de haber montado el bioensayo.



**Fig. 15** Medición de la longitud de las raíces de *Allium cepa L.* al tercer día.



**Fig.16** Medición de la longitud de las raíces de *Allium cepa L.*



**Fig. 17** Comparación entre un bulbo de *Allium cepa* expuesto a las soluciones de las muestras con un bulbo no expuesto.



**Fig. 18** Medición de la longitud de la raíz de un bulbo de *Allium cepa* expuesto al control negativo (agua del grifo) después de las 72 horas.

Anexo N° 6

Gráfico #1

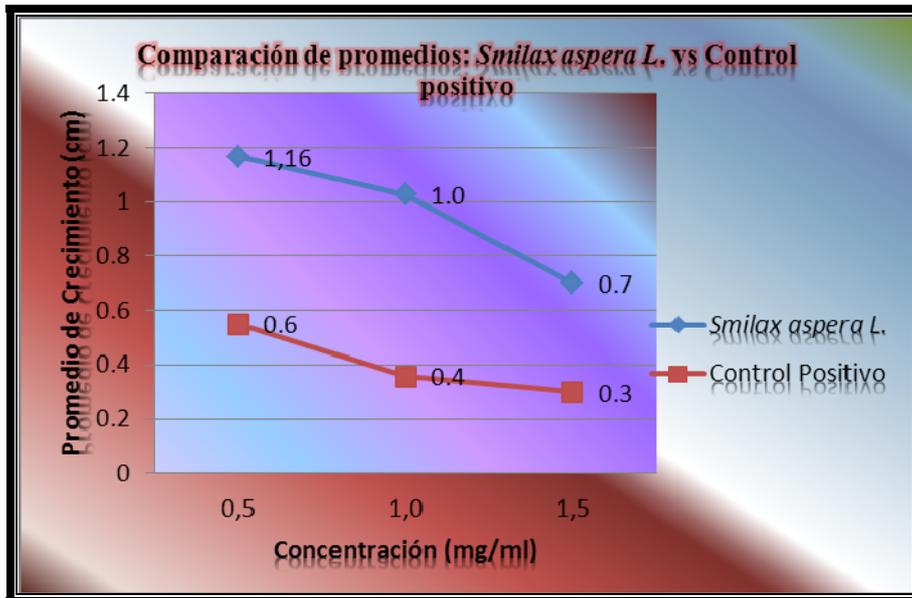
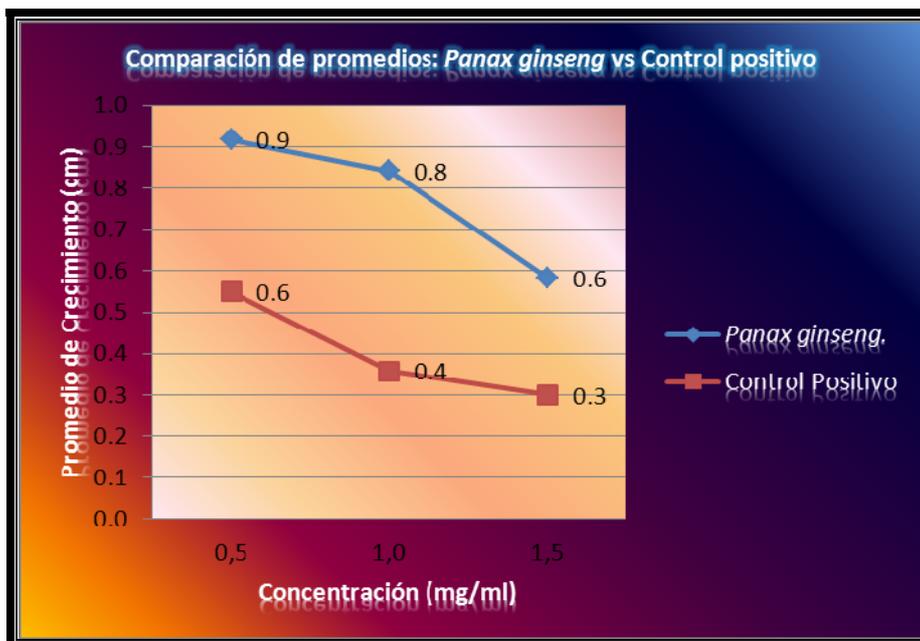
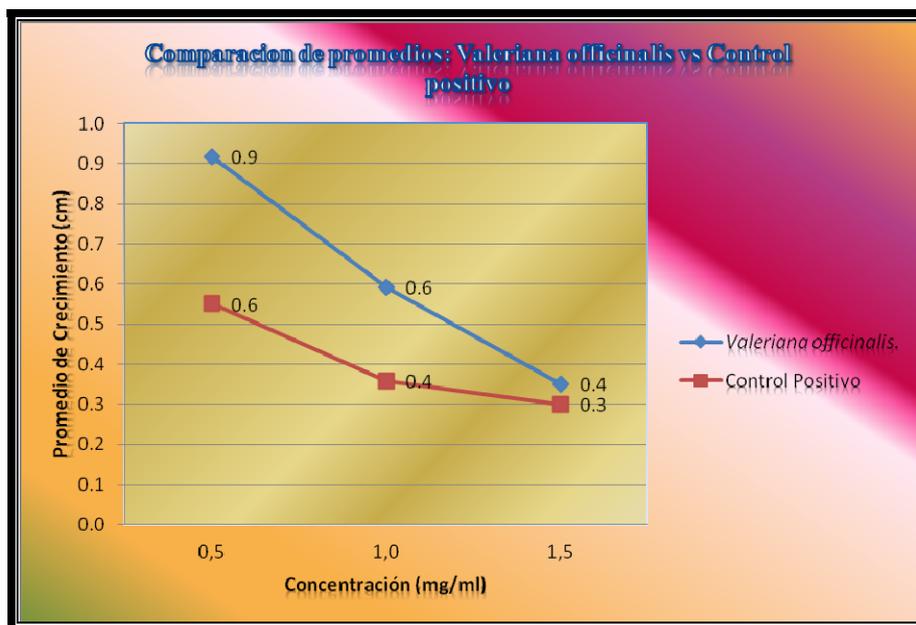


Gráfico #2



En los gráficos # 1 Y 2 los valores promedios de crecimiento de las raíces de *Allium cepa L* en las tres concentraciones del extracto de *Smilax aspera L* y *Panax ginseng* respectivamente están por encima de los valores promedio del control positivo debido a que el control positivo contiene el toxico cobre el cual inhibe la elongación de las raíces.

Gráfico #3



En el grafico # 3 no hay una diferencia significativa en comparación con los gráficos anteriores observándose una aproximación en los promedios de ambos a las concentraciones de 1.5 mg/ml.

## **GLOSARIO**

- **Antropogénica:**

Se refiere a los efectos, procesos o materiales que son el resultado de actividades humanas a diferencia de los que tienen causas naturales sin influencia humana. Normalmente se usa para describir contaminaciones ambientales en forma de desechos químicos o biológicos como consecuencia de las actividades económicas.

- **Biogeoquímico:**

El término proviene del griego “bios” que significa vida, “geos” que significa tierra y “química”, la unión de estas tres ciencias desató una alianza que formó la biogeoquímica como una rama de ellas, haciendo referencia a la vinculación de la composición de la tierra (y sus elementos químicos orgánicos e inorgánicos) con la vida.

- **Ecotoxicología:**

La ecotoxicología estudia el destino y los efectos de los contaminantes en los ecosistemas, intentando explicar las causas y prever los *riesgos* probables. La ecotoxicología prospectiva evalúa la toxicidad de las sustancias antes de su producción y uso. La ecotoxicología retrospectiva se ocupa de confirmar si la sustancia produce daños en el ecosistema.

- **Factor intrínseco:**

Inherente, propio o esencial de una cosa. Inseparable de la cosa en sí. Se llama denominación intrínseca la manera de ser que conviene a una sustancia como tal y no en sus relaciones.

- **Fitofármacos:**

Se desprende de las dos raíces de la palabra “fitofármaco”: “fito” procede del griego y significa planta, “fármaco” es el medicamento. Por lo tanto, en términos generales los fitofármacos son medicamentos que contienen como principio activo exclusivamente plantas, partes de plantas, ingredientes vegetales o bien, preparaciones obtenidas a partir de ellas.

- **Fitoxicidad:**

Se refiere a tóxicos que afectan a los vegetales. Efectos de toxicidad en especies vegetales sensibles, donde diversos factores edáficos pueden determinar la biodisponibilidad de un compuesto químico, y por lo tanto, la intensidad del efecto fitotóxico, tales como el contenido de materia orgánica y el pH del suelo, además del grado de solubilidad de la forma química.

- **Galena:**

La galena es un mineral del grupo de los sulfuros. Forma cristales cúbicos, octaédricos y cubo-octaédricos. La disposición de los iones en el cristal es la misma que en el cloruro sódico (NaCl), la sal marina. Su fórmula química es PbS. Químicamente se trata de sulfuro de plomo aunque puede tener cantidades variables de impurezas. Así, su contenido en plata puede alcanzar el 1%.

- **Inocuidad:**

Incapacidad para hacer daño

- **Meristema:**

Dentro de los tejidos vegetales, los tejidos meristemáticos (del griego *μεριστός*, "divisible") son los responsables del crecimiento vegetal. Sus células son pequeñas, tienen forma poliédrica, paredes finas y vacuolas pequeñas y abundantes. Se caracteriza por mantenerse

siempre joven y poco diferenciado. Tienen capacidad de división y de estas células aparecen los demás tejidos. Lo cual diferencia los vegetales de los animales que llegaron a la multicelularidad de una forma completamente diferente.

- **Oligoelementos:**

Son bioelementos presentes en pequeñas cantidades (menos de un 0,05%) en los seres vivos y tanto su ausencia como una concentración por encima de su nivel característico, puede ser perjudicial para el organismo, llegando a ser hepatotóxicos.

- **Oxácido:**

Los ácidos oxácidos u oxácidos son compuestos ternarios formados por un óxido no metálico y una molécula de agua (H<sub>2</sub>O). Su fórmula responde al patrón H<sub>a</sub>A<sub>b</sub>O<sub>c</sub>, donde A es un no metal o metal de transición.

- **Primordio:**

Conjunto de células del meristema que mediante sucesivas divisiones generan los órganos de la planta.

- **Ribete de Burton:**

Sinónimo: ribete plúmbico o saturnino. Ribete violáceo o negruzco situado sobre las encías, a nivel del cuello de los dientes. Indica una intoxicación crónica por el plomo, y se observa especialmente en las intoxicaciones profesionales (pintores, plomeros, etc).

- **Saturnismo:**

Se denomina saturnismo o plumbosis al envenenamiento que produce el plomo (Pb) cuando entra en el cuerpo humano. Es llamado así debido a que, en la antigüedad, los alquimistas llamaban "Saturno" a dicho elemento químico.

- **Translocación:**

*f.* BIOL. Aberración cromosómica que consiste en el cambio de posición de un fragmento de cromosoma a otro cromosoma no homólogo del mismo núcleo o a otra parte del mismo.

- **Valepotriatos:**

Valepotriatos (0,5-2 %): son ésteres de iridoides bicíclicos, destacando el valtrato, acompañado de varios derivados como el dihidrovaltrato. sólo se localizan en la planta fresca o cuando ésta ha sido desecada a temperaturas bajas (<40°C) ya que son muy inestables y se transforman con facilidad en los llamados baldrinales, que también poseen actividad.