



UNIVERSIDAD DE BELGRANO

# Las tesinas de Belgrano

**Facultad de Ciencias Exactas y Naturales  
Carrera de Farmacia**

Determinación de plomo y cadmio en hierbas  
medicinales

Nº 275

Nicolás M. N. Muñoz

Tutora: Silvia L. Debenedetti

**Departamento de Investigaciones**  
Noviembre 2009



A mi hija Renata

Esta tesina fue realizada íntegramente en el Laboratorio Central de Agua y Saneamientos Argentinos S.A.

## Agradecimientos

A la Dra. Silvia L. Debenedetti docente y guía, por su tiempo y dedicación brindada en estos años.

A la Dra. E. Spegazzini por su colaboración.

Al Laboratorio Central de Agua y Saneamientos Argentinos en donde me desarrollé profesionalmente, a sus integrantes, que me permitieron llegar a esta instancia y en especial a la Lic. María L. Silva, Marcelo Navarro, Dr. Walter Dalia, Lic. Daniela Reca, Ing. Alejandro Barrio, Pablo Costa, Carlos Palumbo, Lic. Patricia Barrientos, Enrique Benitez, Paula Maisa y Carolina González, por su invaluable contribución.

A María, el amor de mi vida, por acompañarme a cumplir este sueño.

A Mi Madre, por su apoyo constante e incondicional en cada paso de mi vida, por educarme, enseñarme los valores de la vida y por el infinito amor que me da.

A mis ejemplos de familia, mi hermana Mercedes, mi cuñado Fernando, mis sobrinas Lola y Delfina.

A Marta, mi segunda madre, por su constante aliento y amor.

A Ana Paz, mi hermana menor por su enorme colaboración informática.

A mi abuela Dorotea porque me contagia con su alegría y ganas de vivir.

A Alberto por su visión crítica de este proyecto.

A la familia Messina, Romina, Victoria y Nacho por el diseño de tapa y su amistad brindada.

A los amigos, Mariano, Fernando, Luciana, Juan y Belén.

A todos los docentes de la Universidad de Belgrano por transmitirme sus conocimientos.

A las chicas del FDS, Susana, Grisel, Cecilia, Carolina, Clara y Ana Laura.

A mis compañeros de la facultad.

## Resumen

Las hierbas medicinales son usadas ampliamente a lo largo de todo el mundo. 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.

Se han notificado efectos adversos debido a la utilización de medicamentos herbarios por sobredosisificación, 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.

Los límites de ingesta de plomo y cadmio se encuentran delimitados en líquidos de consumo y hierbas medicinales por su toxicidad. La exposición a estos metales tiene consecuencias graves sobre la salud.

En el presente trabajo se evaluó plomo y cadmio en las siguientes hierbas medicinales seleccionadas por su alto consumo popular: *Ginkgo biloba* L., *Hydrocotyle asiatica* L., *Passiflora coerulea* L., *Zea mayz* L., *Cynara scolimus* L., *Fucus vesiculosus* L., *Peumus boldus* M. y *Cassia senna* L. También se determinaron estos metales pesados en cocimientos e infusiones preparadas a partir de las drogas vegetales seleccionadas utilizando en todos los casos el método de espectrofotometría de absorción atómica electrotrémica por horno de grafito

Ninguna de las 12 muestras de drogas vegetales analizadas superó la concentración de plomo de 10mg/kg para hierbas medicinales sugerida por la OMS. En los cocimientos efectuados con *Hydrocotyle asiatica* L. y tres muestras de diferente procedencia de *Ginkgo biloba* L.; y en las infusiones realizadas con dos muestras de diferente procedencia de *Ginkgo biloba* L. se detectaron niveles de plomo que excedieron el límite de 10µg/l propuesto para líquidos de consumo por la OMS. Por el contrario, si tenemos en cuenta la ingesta semanal tolerable provisional (PTWI) para plomo estas formas de consumo (infusiones y cocimientos) estarían dentro de los límites permitidos y serían aptas para consumo humano.

En dos muestras de *Hydrocotyle asiatica* L. de diferente procedencia y en *Fucus vesiculosus* L. se detectaron concentraciones de cadmio que excedieron el límite de 0,3mg/kg propuesto para hierbas medicinales por la OMS. En los cocimientos realizados con *Hydrocotyle asiatica* L., *Fucus vesiculosus* L. y en la infusión realizada con *Hydrocotyle asiatica* L. se hallaron concentraciones de cadmio que excedieron el límite de 3,0µg/l para líquidos de consumo propuesto por la OMS. Considerando el PTWI de cadmio se observó que solo el cocimiento realizado con *Hydrocotyle asiatica* L. alcanzó el límite propuesto, las demás infusiones y cocimientos serían aptos para consumo humano aunque se excedan del límite de 3,0µg/l propuesto por la OMS.

Analizando los resultados obtenidos en las drogas vegetales se evidencia una contaminación que podría resultar de la actividad antropogénica o natural y surge la necesidad de un mayor control de calidad de las hierbas medicinales por parte de los organismos nacionales.

## Índice

1. - INTRODUCCIÓN .....	7
2. - OBJETIVO .....	8
3. - ANTECEDENTES .....	8
3.1. - La Organización Mundial de la Salud y la calidad de las plantas usadas en la medicina ....	8
3.2. - Situación regulatoria en la Argentina .....	9
3.3. - Metales Pesados .....	10
3.4. - Antecedentes de detección de plomo y cadmio en hierbas medicinales en el mundo.....	11
3.5.- Plomo .....	11
3.5.1. - Propiedades físicas y químicas del plomo.....	12
3.5.2. - Compuestos del plomo .....	12
3.5.3. - Actividad antropogénica contaminante.....	12
3.5.4. - Contaminación natural .....	13
3.5.5. - Existencia del plomo en el medio ambiente.....	13
3.5.6. - Ionización del plomo y biodisponibilidad.....	13
3.5.7. - Toxicidad del plomo .....	13
3.6. - Cadmio .....	14
3.6.1. - Propiedades físicas y químicas del cadmio .....	15
3.6.2. - Compuestos del cadmio .....	15
3.6.3. - Actividad antropogénica contaminante.....	15
3.6.4. - Existencia del cadmio en el medio ambiente.....	15
3.6.5. - Toxicidad del cadmio.....	15
3.7. - Límites de metales pesados para productos de consumo.....	16
3.7.1. - En agua potable.....	16
3.7.2. - En drogas vegetales para uso medicinal .....	16
3.8. - Descripción, composición y actividad farmacológica de las muestras analizadas .....	17
3.8.1. - <i>Ginkgo biloba</i> L. ....	17
3.8.2. - <i>Passiflora coerulea</i> L. ....	18
3.8.3. - <i>Cynara scolimus</i> L. ....	18
3.8.4. - <i>Peumus boldus</i> M. ....	19
3.8.5. - <i>Fucus vesiculosus</i> L.....	19
3.8.6. - <i>Zea mays</i> L. ....	19
3.8.7. - <i>Hydrocotyle asiatica</i> L.....	20
3.8.8. - <i>Cassia senna</i> L. ....	20
4. - MATERIALES Y METODOS .....	21
4.1. - Material vegetal.....	21
4.2. - Preparación de las muestras .....	21
4.2.1. - Preparación de la droga vegetal .....	21
4.2.2. - Preparación de las infusiones (Farmacopea Nacional Argentina VI Ed.) .....	22
4.2.3. - Preparación de los cocimientos (Farmacopea Nacional Argentina VI Ed.) .....	22
4.2.4. - Preparación de las soluciones estándar .....	22
Solución de calibración de plomo.	
Solución de patrón externo de plomo.	
Solución de calibración de cadmio.	
Solución de patrón externo de cadmio.	
Solución modificadora de matriz de Nitrato de Magnesio 250mg/l.	
Solución modificadora de matriz de Nitrato de Paladio 800mg/l.	
4.3. - Digestión asistida por microondas.....	23
4.3.1. - Equipo utilizado.....	23
4.3.2. - Metodología utilizada para la digestión de drogas vegetales .....	24
4.3.3. - Digestión de las drogas vegetales .....	24
4.3.4. - Digestión de las soluciones de calibración, patrón externo y blanco para la determinación de plomo y cadmio en drogas vegetales .....	24
4.3.5. - Metodología utilizada para la digestión de las infusiones y cocimientos .....	24
4.3.6. - Digestión de las infusiones y cocimientos .....	24
4.3.7. - Digestión de las soluciones de calibración, patrón externo y blanco para la determinación de plomo y cadmio en cocimientos e infusiones ....	25

4.4. - Análisis cuantitativo de plomo y cadmio .....	25
4.4.1. - Equipo utilizado.....	25
4.4.2. - Método de detección y cuantificación de plomo y cadmio en drogas vegetales, cocimientos e infusion .....	26
4.4.3. - Modo operativo .....	26
Plomo.	
Cadmio.	
<i>Condiciones de trabajo del equipo para la determinación de plomo.</i>	
<i>Condiciones del horno.</i>	
<i>Condiciones de trabajo del equipo para la determinación de cadmio.</i>	
<i>Condiciones del horno.</i>	
4.5. - Control de calidad del método utilizado .....	29
4.5.1. - Matriz fortificada de laboratorio.....	29
Agregado patrón de 10µg/l de plomo sobre cocimientos e infusiones.	
Agregado patrón de 0,40µg/l de cadmio sobre los cocimientos e infusiones.	
4.5.2. - Evaluación de calidad del método utilizado para drogas vegetales .....	30
5. - RESULTADOS .....	31
5.1. - Análisis cuantitativo de plomo en drogas vegetales, cocimientos e infusiones .....	31
5.2. - Efectos de la extracción acuosa .....	31
5.3. - Ingesta semanal tolerable provisional para plomo (PTWI) .....	31
5.4. - Análisis cuantitativo de cadmio en drogas vegetales, cocimientos e infusiones .....	32
5.5. - Efectos de la extracción acuosa .....	33
5.6. - Ingesta semanal tolerable provisional para cadmio (PTWI) .....	33
5.7. - Control de calidad del método utilizado .....	33
5.7.1. - Matriz fortificada de laboratorio .....	33
Agregado patrón de 10µg/l de plomo sobre infusiones y cocimientos.	
Agregado patrón de 0.4µg/l de cadmio sobre <i>infusiones y cocimientos.</i>	
5.7.2. - Evaluación de calidad del método utilizado para drogas vegetales .....	33
6. - DISCUSIÓN .....	35
7. - CONCLUSIONES.....	36
8. - REFERENCIAS.....	36

## 1. - Introducción

Las plantas han formado la base de los sistemas tradicionales de medicina que han existido por cientos de años. En las últimas décadas la utilización de plantas medicinales en terapéutica o como suplemento dietario se ha incrementado substancialmente más allá de los registros históricos. Ha renacido en todo el mundo el interés por el uso de la medicina tradicional (Caldas y Machado, 2004; Gurib-Fakim, 2006).

En los países desarrollados se están popularizando los medicamentos tradicionales, complementarios y alternativos como una opción más disponible y más económica que las drogas farmacéuticas. Según estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (WHO por *World Health Organization*, 2001; 2003<sub>a</sub>) el porcentaje de la población que ha utilizado dichos medicamentos, al menos una vez, es del 48% en Australia, el 31% en Bélgica, el 70% en Canadá, el 42% en Estados Unidos y el 49% en Francia. También en Japón el 85% de los médicos prescribe no sólo medicina moderna sino también hierbas medicinales tradicionales las cuales son cubiertas por el seguro de salud.

En China, la medicina tradicional representa cerca del 40% de toda la atención de salud prestada. Mientras que en África, más del 80% de la población depende de éstas. Un estudio reciente llevado a cabo en Ghana, Malí, Nigeria y Zambia, reveló que las hierbas medicinales son la primera elección para el tratamiento casero de fiebre alta en niños. En India son utilizadas por el 65% de la población, mediante la medicina tradicional ayurvédica la cual emplea más de 1200 hierbas diferentes. En América Latina la medicina tradicional ha sido utilizada por el 71% de la población chilena y el 40% de la población colombiana (WHO, 2001; 2003<sub>a</sub>).

En el mundo las hierbas medicinales representan económicamente un valor de mercado cerca de US\$ 43 billones por año. De acuerdo a la Comisión Presidencial de Suplementos Dietarios, sólo en EE.UU., más de 1500 hierbas medicinales son vendidas anualmente por un total de casi US\$ 5 billones y constituyen el sector que crece más rápido en el mercado farmacéutico (WHO, 2001).

Otra razón para la creciente popularidad de las hierbas medicinales es que muchas personas creen que son más seguras y "más naturales" que los productos farmacéuticos. Algunos ejemplos de la revalorización de estos productos son: en Alemania se comenzó a usar nuevamente *Matricaria recutita* L. como fármaco que provoca un aumento de las defensas del organismo ante agentes estresantes, de igual modo el resurgir desde el tercer mundo de *Psidium guajava* L. conocida como guayaba, para el control eficaz de las diarreas y la colitis nerviosa. Por otra parte la uña de gato, nombre que se le aplica a dos especies nativas de Perú, *Uncaria tomentosa* (Wild.) DC. y *Uncaria guianensis* (Aubl.) Gmel., cobra notoriedad por poseer acción del tipo antiinflamatoria, inmunoestimulante, antioxidante, antimutagénica y antiviral (Acosta de la Luz, 1998).

En los últimos años la OMS ha promocionado la medicina tradicional. Algunos países han solicitado ayuda a la Organización para seleccionar medicamentos herbarios seguros, inocuos y eficaces que se puedan utilizar en sus respectivos sistemas nacionales de atención sanitaria (WHO, 1991).

Luego de la utilización de algunos medicamentos herbarios, se han notificado efectos adversos. Esto podría deberse al uso inadvertido de especies vegetales equivocadas, a la adulteración con otros medicamentos, a la contaminación con sustancias tóxicas no declaradas, a la sobredosificación, al uso inadecuado por los consumidores y al consumo concomitante con otros medicamentos resultando interacciones farmacológicas adversas. Entre los acontecimientos adversos imputables a la calidad deficiente de los productos acabados, algunos se deben claramente al uso de materias primas vegetales medicinales de calidad insuficiente (WHO, 2003<sub>b</sub>).

La inocuidad y la calidad de las materias primas vegetales medicinales y de los productos acabados dependen de factores intrínsecos (genéticos) o extrínsecos (medio, método de recolección, cultivo, cosechado, procesado poscosecha, transporte y prácticas de almacenamiento). La contaminación por agentes microbianos y químicos durante cualquiera de las etapas de producción también pueden comprometer la calidad y la inocuidad. Debido a estos problemas fue necesario crear medidas que garanticen la calidad e inocuidad para asegurar una provisión continua, factible y sostenible de materias vegetales medicinales (WHO, 2003<sub>b</sub>).

En lo que a contaminación química se refiere se hizo necesario monitorear los niveles de metales tóxicos en hierbas medicinales, principalmente por dos razones: por un lado se ha incrementado la contaminación ambiental con metales tóxicos. Las fuentes de esta contaminación son variadas, desde las emisiones industriales y de tránsito hasta el uso de barros de purificación y desechos agrícolas, así como también desechos que contienen cadmio, funguicidas orgánicos de mercurio e insecticidas con plomo. Por otro lado las hierbas medicinales exóticas, particularmente de origen asiático, contienen niveles tóxicos comprobados de metales pesados (De Smet *et al.*, 1997).

## 2. - Objetivo

El objetivo del presente trabajo es determinar la presencia de plomo y cadmio en hierbas medicinales de venta comercial en herboristerías argentinas. Verificar la presencia y cuantificar estos metales pesados en las distintas formas de preparación de uso popular, en infusiones y cocimientos, basados en normativas internacionales para líquidos de consumo y drogas vegetales.

## 3. - Antecedentes

### 3.1. - La Organización Mundial de la Salud y la calidad de las plantas usadas en medicina.

La OMS define a los medicamentos herbarios como productos medicinales acabados y etiquetados cuyos ingredientes activos estén formados por partes aéreas o subterráneas de plantas u otros materiales vegetales o combinaciones de ellos, en bruto o en forma de preparaciones de plantas. Por materiales vegetales se entienden jugos, resina, aceites grasos, aceites esenciales o cualesquiera otras sustancias de esa naturaleza. Los medicamentos herbarios pueden contener excipientes, además de los principios activos. No se consideran medicamentos herbarios los que contienen material vegetal combinado con sustancias activas químicamente definidas, incluidos constituyentes de plantas aislados y químicamente definidos.

Excepcionalmente, en algunos países los medicamentos herbarios pueden contener también, conforme a la tradición, principios activos naturales, orgánicos o inorgánicos que no sean de origen vegetal (WHO, 2000).

En 1978 la 31ª Asamblea Mundial de la Salud acordó una resolución (WHA31.33) en la cual solicitó a la OMS que dispusiera de una compilación y actualización periódica de una clasificación terapéutica de las plantas medicinales, relacionada con la clasificación terapéutica general de todos los medicamentos. En la resolución WHA40.33 aprobada en 1987 se solicitó a los estados miembros de la Asamblea que se garantice la inspección de la calidad de los medicamentos derivados de remedios tradicionales a partir de plantas, usando técnicas nuevas y aplicando normas adecuadas y prácticas correctas de fabricación. En 1989 a través de la resolución WHA42.43 la Asamblea instó a los estados miembros a que implantaran medidas para reglamentar y controlar los productos elaborados a partir de plantas medicinales y establecer y mantener normas adecuadas (WHO, 2000; Kamboj, 2000).

En la 5ª Conferencia Internacional de Organismos de Reglamentación Farmacéutica del año 1989 se dictó un curso práctico sobre la reglamentación de medicamentos herbarios objeto de comercio internacional. En esta reunión se llegó a la conclusión de que la OMS debía examinar la conveniencia de preparar un modelo de pautas en las que figuraran elementos básicos de legislación para los países que quisieran implantar sistemas apropiados de reglamentación y registro de medicamentos herbarios (WHO, 2000).

Finalmente en el año 1991, la OMS presentó un informe en la 44ª Asamblea Mundial de la Salud, en donde señaló la importancia del uso de las plantas medicinales en la salud de las personas y las comunidades. En ese mismo año, se ultimaron una serie de pautas para la evaluación de medicamentos herbarios. El objetivo de las pautas fue formular criterios básicos para la evaluación de la calidad, la inocuidad y la eficacia de los medicamentos herbarios, ayudando a los organismos nacionales, de reglamentación, a las organizaciones científicas y a los fabricantes a evaluar la documentación, los informes y los expedientes que se les presenten respecto de dichos productos. Las pautas también nombran la evaluación de la calidad del material vegetal bruto, y dicen que habrá que determinar o limitar el contenido de sustancias extrañas, impurezas y microbios.

En una reunión de la OMS sobre metodología para el control de la calidad de los productos herbarios acabados mantenida en Ottawa (Canadá) en el año 2001, se examinó la totalidad del proceso de producción de los medicamentos herbarios, desde las materias primas hasta los productos herbarios acabados. Allí se recomendó que la OMS diera prioridad a la elaboración de normas aplicables en todo el mundo para fomentar la inocuidad y la calidad de las materias vegetales medicinales mediante la formulación de códigos de buenas prácticas agrícolas y buenas prácticas de recolección. Se consideró que estas directrices contribuirían a asegurar la inocuidad y la calidad en la primera y más importante etapa de la producción de medicamentos herbarios (Kamboj, 2000; WHO, 2003).

En el año 2003 la OMS publicó una serie de normas que se refieren al cultivo y a la recolección de plantas medicinales, incluidas determinadas operaciones poscosecha. Esta publicación menciona que las materias primas vegetales medicinales deben cumplir con todas las normas de calidad nacionales o regionales aplicables, por lo que puede ser necesario ajustar las directrices a la situación de cada país.

Los objetivos principales de estas normas son:

- contribuir a garantizar la calidad de las materias vegetales medicinales con las que se elaboran los medicamentos herbarios, con la finalidad de mejorar la calidad, la inocuidad y la eficacia de los productos herbarios acabados;
- proporcionar orientación para la formulación de directrices y monografías nacionales o regionales sobre buenas prácticas agrícolas y de recolección de plantas medicinales, así como de los procedimientos normalizados de actuación relacionados;
- impulsar y apoyar el cultivo y la recolección sostenibles de plantas medicinales de buena calidad, mediante métodos que respeten y propicien la conservación de las plantas medicinales y del medio ambiente en general (WHO, 2003<sub>b</sub>; Gurib-Fakim, 2006).

### 3.2. - Situación regulatoria en Argentina.

Antes del año 1993, no existía criterio científico ni control para la recolección, secado, conservación o desintegración de las plantas medicinales en la naturaleza. Aunque las herboristerías eran controladas por la ley, la venta de las plantas medicinales por medio de otros canales de distribución se realizaba sin control alguno (WHO, 1998).

Si bien se describían métodos farmacognósticos en la Farmacopea Nacional Argentina (1978) no se indicaba ningún método para la determinación de los principios activos, ni se definía lo que era una planta medicinal. La Ley No. 16.463, no dejaba en claro cuáles eran los requisitos que tenían que cumplirse para solicitar el registro de un medicamento nuevo basado en plantas medicinales (WHO, 2000).

Aunque estaba aumentando el conocimiento científico de las plantas medicinales y tóxicas, fue necesario obtener más información acerca de la utilización de aproximadamente 800 especies. Por ello, se hizo evidente la necesidad de una legislación para remediar la situación insatisfactoria en relación con las plantas medicinales.

En noviembre de 1993, el Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires publicó una reglamentación para el registro y la comercialización de plantas medicinales. Así se estableció la obligación de reconocer las hierbas medicinales. Las herboristerías debían registrar sus productos en el plazo de 180 días, junto con la documentación que contenga, por ejemplo, el nombre y parte de la planta empleada, los principios activos, la identificación y las indicaciones. En el caso de una mezcla de hierbas, tenía que demostrarse el beneficio de la combinación (WHO, 2000).

A partir del año 1998 se reglamentaron las normativas y los decretos referidos a las drogas vegetales y a los productos que las contienen.

La resolución 144/98 del Ministerio de Salud y Acción Social establece normas reglamentarias que contemplan la importación, elaboración, fraccionamiento, depósito, comercialización y publicidad de drogas vegetales y medicamentos fitoterápicos; así como también las personas físicas y jurídicas que intervengan en dichas actividades. El objetivo de esta resolución es garantizar la calidad, eficacia e inocuidad de los medicamentos herbarios según las recomendaciones de la OMS. La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica y la Dirección General de Asuntos Jurídicos intervienen en dichas normas. Esta resolución en el artículo 2º define a los medicamentos fitoterápicos como toda preparación o producto farmacéutico empleado para la prevención, diagnóstico y/o tratamiento de una enfermedad o estado patológico, o para modificar sistemas fisiológicos en beneficio de la persona a quien se le administra medicamentos (Decreto 150/92. Artículo 1º. Inciso a) pero que no reúnen los requisitos establecidos para las especialidades medicinales o farmacéuticas (Decreto 150/92. Artículo 1º. Inciso d) y que contengan como principio activo drogas vegetales puras y/o mezclas definidas de estas y/o preparados de drogas vegetales, tradicionalmente usadas con fines medicinales, y que no contengan sustancias activas químicamente definidas o sus mezclas aun cuando fuesen constituyentes aislados de plantas, salvo los casos que así se justifiquen. También en el artículo 2º de la resolución 144/98 se define a las drogas vegetales como plantas enteras o sus partes, molidas o pulverizadas (flores, frutos, semillas, tubérculos, cortezas, etc.) frescas o secas, así como los jugos, resinas, gomas, látex, aceites esenciales o fijos y otros componentes similares, que se emplean puros o mezclados en la elaboración de medicamentos fitoterápicos.

Esta resolución 144/98 fue reglamentada a través de tres disposiciones:

La disposición 2671/99 fija normas para la habilitación de establecimientos elaboradores, envasadores/fraccionadores e importadores de medicamentos fitoterápicos. Así en el artículo 2º define al establecimiento elaborador como el establecimiento que posee el equipamiento necesario y está autorizado para elaborar y controlar medicamentos fitoterápicos; al establecimiento fraccionador como el establecimiento que posee el equipamiento necesario y está autorizado para, fraccionar y/o acondicionar en unidades de uso y controlar medicamentos fitoterápicos y por último define al establecimiento importador como el

establecimiento autorizado para importar y controlar productos medicamentos fitoterápicos.

La disposición 2672/99 del ANMAT establece una Guía de Buenas Prácticas de Fabricación y Control para Productos Fitoterápicos, a fin de garantizar la calidad con la que llegan al mercado tales productos, elaborados, importados y distribuidos de acuerdo con el régimen previsto por la Resolución N° 144/98-MSAS. Esta disposición enmarca las prácticas y procedimientos de fabricación y comercialización que se deben aplicar para asegurar que las instalaciones, métodos y controles usados en la elaboración y venta de productos fitoterápicos sean adecuados para asegurar la calidad y estabilidad de los mismos. La disposición 2672/99 es orientativa y puede adaptarse a las necesidades de cada establecimiento, siempre que ello no implique un detrimento de la calidad de los productos comercializados.

La disposición 2673/99 fija una serie de normas para la implementación del registro de medicamentos fitoterápicos elaborados en el país o importados. Estos productos deben ajustarse en su presentación a requisitos técnicos establecidos en los anexos I y II de la disposición. En el anexo I, se incluye la presentación de una monografía de la droga vegetal. En el punto 7 de este anexo se describe el control de las materias primas, especificando para drogas vegetales la caracterización química de los componentes principales, valoración de los mismos cuando corresponda, y validación de los métodos propuestos. Determinando así la pureza y sustancias extrañas en donde se mencionan arsénico y metales pesados.

### 3.3. - 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 (Ferrer, 2003).

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).

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 (Ferrer, 2003).

La mayoría de los oligoelementos considerados imprescindibles para el correcto funcionamiento del organismo son metálicos: hierro, cobre, manganeso, cinc, cobalto, molibdeno, selenio, cromo, estaño, vanadio, sílice y níquel. 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 (Ferrer, 2003).

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 (Ferrer, 2003; Langley *et al.*, 2003, Caldas y Machado, 2004).

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 (López Perea *et al.*, 2004; Islam *et al.*, 2007).

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 (Ramos *et al.*, 1994).

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 (Ferrer, 2003).

### 3.4. - Antecedentes de detección de plomo y cadmio en hierbas medicinales en el mundo.

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.

En el año 2004 se publicó una investigación sobre metales pesados en hierbas utilizadas en la medicina ayurvedica. Los productos utilizados eran originarios del sur de Asia y comercializados en Boston (EE.UU.) De las 70 muestras que analizaron, 14 contenían plomo en una concentración por encima de las normas regulatorias de consumo publicadas por la Farmacopea y la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (Saper *et al.*, 2004).

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 (Dwivedi y Dey, 2002).

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).

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. (U. S. Department of Health and Human Services, 2004).

También 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 0,74µg/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 debido 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 1480µg/g (Caldas y Machado, 2003).

El efecto de la extracción con agua hirviendo fue extensivamente estudiado por diversos investigadores. Un ejemplo de ello es el análisis de los niveles de plomo y cadmio en 120 muestras de 19 drogas vegetales y en forma de tes preparados de esas muestras. El pasaje de metales al té fue del 50 % en solo el 12% de las muestras analizadas para plomo y en el 8 % de las muestras analizadas para cadmio. La mayoría de las muestras de té (67% y 71 % de plomo y cadmio respectivamente) mostraron una extracción de 25 % o menos. Los valores de extracciones individuales mostraron un rango de 1% a 87% para plomo y un rango de pasaje de cadmio que variaba entre 1% y 68%. Esta amplitud en el rango pudo deberse a las diferentes formas de contaminación. Cuando una droga vegetal se encuentra contaminada en la superficie con sales inorgánicas es factible que grandes proporciones puedan disolverse en el agua caliente. Sin embargo, cuando las trazas se encuentran orgánicamente unidas a las células el pasaje al té es relativamente bajo. Otro ejemplo indicó una extracción incompleta con agua caliente. Este grupo de investigadores encontró que mientras la droga se hallaba fresca el lavado de la planta podía remover entre el 15-30% de metales pesados contaminantes. En otras experiencias el grupo mostró que el pasaje de plomo y cadmio al solvente de extracción disminuía a medida que la polaridad del solvente decrecía (De Smet, 1996).

### 3.5. - 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 (Rubio *et al.*, 2004).

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 (National Toxicology Program, 2004).

### 3.5.1. - 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°C y su punto de ebullición es de 1740°C. El Plomo existe en los estados de valencia +2 y +4 y sus isótopos naturales son: 204, 206, 207 y 208 (National Toxicology Program, 2004).

### 3.5.2. - 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  $Pb^{2+}$ .

Las formas químicas del plomo frecuentemente encontradas en el suelo son el sulfato de plomo ( $PbSO_4$ ) y el carbonato de plomo ( $PbCO_3$ ), el mismo compuesto identificado como forma primaria en la atmósfera (López *et al.*, 2005).

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 (National Toxicology Program, 2004):

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.

El acetato de plomo ( $PbC_4H_6O_4$ ), el acetato de plomo trihidratado ( $PbC_4H_{12}O_7$ ), el cloruro de plomo ( $PbCl_2$ ), el nitrato de plomo ( $Pb(NO_3)_2$ ) y el subacetato de plomo ( $Pb_2C_4H_8O_6$ ) 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 ( $PbAsHO_4$ ), azida de plomo ( $PbN_6$ ), bromuro de plomo ( $PbBr_2$ ), fluoruro de plomo ( $PbF_2$ ), fosfato de plomo ( $Pb_3O_8P_2$ ), estearato de plomo ( $Pb(C_{18}H_{35}O_2)_2$ ), sulfato de plomo ( $PbSO_4$ ), el tiocianato de plomo ( $Pb(SCN)_2$ ), fluorborato de plomo ( $PbB_2F_8$ ), carbonato de plomo ( $PbCO_3$ ), cromato de plomo ( $PbCrO_4$ ), ioduro de plomo ( $PbI_2$ ), naftenato de plomo ( $Pb(C_7H_{11}O_2)_2$ ), óxido de plomo ( $PbO$ ), estifnato de plomo ( $PbC_6HO_2(NO_2)_3$ ), sulfuro de plomo ( $PbS$ ), tetróxido de plomo ( $Pb_3O_4$ ) (National Toxicology Program, 2003).

Los compuestos orgánicos primarios de tetraalquilplomo como el tetraetilplomo ( $Pb(C_2H_5)_4$ ) y tetrametilplomo ( $Pb(CH_3)_4$ ), 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 (National Toxicology Program, 2004).

### 3.5.3. - Actividad antropogénica contaminante.

La presencia abundante y esparcida de plomo en nuestro ambiente es en gran parte un resultado de la actividad antropogénica (National Toxicology Program, 2004).

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, vidrioado de cerámica y ciertos tipos de cristal. El plomo es un material excelente como protector de radiaciones ionizantes (Mauss, 1993; Rubio *et al.*, 2004).

Los óxidos de plomo se utilizan en las placas de las baterías eléctricas y los acumuladores ( $PbO$  y  $Pb_3O_4$ ), como agentes de mezcla en la fabricación de caucho ( $PbO$ ) y en la fabricación de pinturas ( $Pb_3O_4$ ) y como componentes de barnices, esmaltes y vidrio. El arseniato de plomo ( $PbAsHO_4$ ) y el naftenato de plomo ( $Pb(C_7H_{11}O_2)_2$ ) son utilizados como insecticidas y herbicidas; el sulfato de plomo ( $PbSO_4$ ) se utiliza en mezclas de caucho. El acetato de plomo ( $PbC_4H_6O_4$ ) tiene usos importantes en la industria química (National Toxicology Program, 2004).

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 (Gunnar, 2001).

#### **3.5.4. - 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 (National Toxicology Program, 2004).

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 (National Toxicology Program, 2004).

#### **3.5.5. - 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 (Rubio *et al.*, 2004).

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 (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2005).

#### **3.5.6. - 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 (National Toxicology Program, 2004).

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 (National Toxicology Program, 2004).

#### **3.5.7. - 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) (López *et al.*, 2005).

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 (López *et al.*, 2005). 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% (Ferrer, 2003).

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 sustitución del calcio y, aunque no causa allí ningún problema, puede ser origen de reaparición de toxicidad crónica por movilización (Ferrer, 2003).

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 (Mauss, 1993; Ferrer, 2003).

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 35 µg/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 (Rubio *et al.*, 2004).

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 (Rubio *et al.*, 2004).

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.

La intoxicación crónica por plomo refleja su acción en los diferentes órganos (Ferrer, 2003):

**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.

**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.

**Sistema gastrointestinal:** dolor abdominal de tipo cólico, anorexia, vómitos y crisis de estreñimiento alternando con diarrea.

**Riñón:** el plomo se acumula en las células tubulares proximales y produce insuficiencia renal. También se asocia con hipertensión arterial y gota.

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 (Rubio *et al.*, 2004).

### 3.6. - Cadmio.

El cadmio es un elemento que se encuentra naturalmente en la corteza terrestre. También se encuentra regularmente en minerales junto con el cobre y el plomo (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1999).

Este metal pesado ha adquirido una gran importancia toxicológica y ecotoxicológica. Ello está asociado al hecho de que la actividad antrópica lo remueve de sus depósitos naturales insolubles distribuyéndolo en los diferentes compartimentos ambientales como en el aire, la tierra y el agua siendo este último, el sitio más importante del depósito final de sus diferentes formas solubles. Como consecuencia de los

procesos de bioacumulación esta dinámica ambiental conlleva a la exposición crónica de los organismos, con consecuencias tanto a nivel individual como poblacional (Eissa *et al.*, 2003; Tomaro *et al.*, 2005).

### 3.6.1. - Propiedades físicas y químicas del cadmio.

El cadmio es un elemento metálico que se encuentra en el grupo IIB de la tabla periódica. Es insoluble en agua, resistente a la corrosión y de color blanco plateado. Su punto de fusión es de 320.9°C y su punto de ebullición es de 765°C (Alessio *et al.*, 1983). Tiene valencias posibles de 0, +1, +2 y forma casi todos sus compuestos en el estado de oxidación +2. El cadmio metálico es oxidado lentamente en el aire húmedo y cuando es calentado en el aire, forma rápidamente compuestos de óxido de cadmio (U. S. Environmental Protection Agency, 1999).

### 3.6.2. - Compuestos del cadmio.

El cadmio no se presenta comúnmente en el medio ambiente en forma elemental, sino combinado con otros elementos, tales como el oxígeno (óxido de cadmio), el cloro (cloruro de cadmio) y el azufre (sulfato de cadmio y sulfuro de cadmio). La mayor parte del cadmio se encuentra en la naturaleza como complejos minerales de óxidos, sulfuros, carbonatos, zinc, plomo y cobre (Gunnar, 2001). Las diferentes formas de los compuestos de cadmio son sólidas y se disuelven en agua en grados diferentes (Agency for Toxic Substance and Disease Registry, 1999). También forma otros compuestos tales como estearato de cadmio y sulfoseleniuro de cadmio (U. S. Environmental Protection Agency, 1999; Gunnar, 2001).

### 3.6.3. - Actividad antropogénica contaminante.

El cadmio se utiliza para su electrodeposición en otros metales, especialmente el acero y el hierro. Los tornillos, las tuercas de seguridad, los pestillos y diversas partes de los aviones y vehículos de motor están tratados con cadmio con el fin de protegerlos de la corrosión. Actualmente, sólo el 8 % de todo el cadmio refinado se utiliza para el galvanizado y los recubrimientos. Los compuestos de cadmio se utilizan también como pigmentos y estabilizadores de plásticos (30 % de su uso en los países desarrollados) y en ciertas aleaciones (3 %) Las baterías pequeñas, portátiles y recargables de níquel y cadmio (NiCd) que se utilizan, por ejemplo, en los teléfonos móviles representan un uso del cadmio cada vez mayor (Gunnar, 2001).

El estearato de cadmio, se utiliza como estabilizador térmico en los plásticos de PVC (cloruro de polivinilo) El sulfuro de cadmio y el sulfoseleniuro de cadmio se utilizan como pigmentos amarillo y rojo en plásticos y tintes. El sulfuro de cadmio se utiliza también en células solares y fotográficas. El cloruro de cadmio se emplea como fungicida, componente de los baños galvanoplásticos, colorante en pirotecnia, aditivo en las soluciones de estañado y mordente en la tinción e impresión de textiles. También se utiliza para la producción de determinadas películas fotográficas, para la fabricación de espejos especiales y para el recubrimiento de tubos electrónicos de vacío. El óxido de cadmio se utiliza como agente para galvanoplastia, materia prima para los estabilizadores térmicos de PVC y componente de las aleaciones de plata, pigmentos fosforescentes y semiconductores, así como para el endurecimiento de cristales o el vitrificado de cerámica (Gunnar, 2001).

### 3.6.4 - Existencia de cadmio en el medio ambiente.

El cadmio se libera al medio ambiente por el deterioro de las rocas dentro de los ríos y luego hacia los océanos. En el aire, desde la actividad volcánica y los incendios forestales.

La mayor contribución de cadmio hacia el medio ambiente proviene de la actividad industrial, como por ejemplo, las actividades mineras, la quema de combustibles fósiles, etc. (Tomaro *et al.*, 2005).

Los fertilizantes aplicados a los cultivos contienen cadmio. El cadmio puede ingresar al suelo o al agua desde el vertido o el filtrado en sitios en donde existen residuos peligrosos si, grandes cantidades de cadmio disueltas están presentes en el lugar. El cadmio adherido a pequeñas partículas de suelo, ingresa al aire y recorre largos caminos en la lluvia o la nieve antes de caer al suelo como polvo. Algunas formas de cadmio pueden ingresar al suelo, al agua, al aire o a los alimentos y de esta forma son tomados por las plantas y los animales (Agency for Toxic Substance and Disease Registry, 1999; Tomaro *et al.*, 2005).

### 3.6.5. - Toxicidad del cadmio.

Las solubilidades de los diferentes compuestos de cadmio son relevantes en todas las consideraciones de biocinética para estos compuestos. La farmacocinética del cadmio depende de las formas del cadmio inhalado o ingerido y el estado fisiológico y dietario del organismo expuesto (U. S. Environmental Protection Agency, 1999).

La absorción gastrointestinal del cadmio ingerido es aproximadamente de 2 a 6% en condiciones normales. Las personas que poseen pocas reservas de hierro en su organismo y por lo tanto una baja concentración de ferritina en el suero, pueden presentar una absorción de cadmio mucho mayor, de hasta un 20 % de la dosis ingerida. Tras la absorción, ya sea por vía digestiva o respiratoria, el cadmio se transporta al hígado, donde se inicia la producción de una proteína de bajo peso molecular que se une al cadmio, la metalotioneína (Nordberg *et al.*, 2000; Gunnar, 2001).

Se han descrito casos de exposición excesiva al cadmio por la ingestión de arroz y otros alimentos contaminados, incluyendo la toma de agua contaminada. La ingestión de bebidas contaminadas con cadmio en concentraciones superiores a 15mgCd/l produce síntomas de intoxicación alimentaria aguda con síntomas de náuseas, vómitos, dolor abdominal y, en ocasiones, diarrea (Gunnar, 2001; Godt *et al.*, 2006).

Los riñones y el hígado presentan las concentraciones de cadmio más elevadas, puesto que contienen cerca del 50 % de la carga corporal de cadmio. La concentración de cadmio en la corteza renal, antes de que se produzcan lesiones renales inducidas por este metal, es aproximadamente 15 veces superior a la concentración hepática. En casos de exposición prolongada a bajos niveles de cadmio (intoxicación crónica), los riñones son los primeros órganos en ser afectados debido a que el Cd se acumula en la corteza renal. Se calcula que las concentraciones superiores a 200µgCd/g de peso fresco producen disfunción de los túbulos renales y disminución de la reabsorción de las proteínas de la orina. Estudios recientes indican, sin embargo, que puede producirse el daño tubular incluso con niveles inferiores de cadmio en la corteza renal. Hay que señalar que las lesiones renales inducidas por cadmio son irreversibles y pueden seguir progresando incluso después de que cesa la exposición (Gunnar, 2001; Godt *et al.*, 2006).

A medida que la insuficiencia renal avanza, también se pierden por la orina aminoácidos, glucosa y minerales, como el calcio y el fósforo que pueden alterar el metabolismo óseo. Cuando los casos de intoxicación crónica revisten de gravedad se pueden detectar osteomalacias. En Japón, en zonas con un alto grado de exposición al cadmio, se han producido casos de una enfermedad llamada "itai-itai", un tipo de osteomalacia dolorosa, con múltiples fracturas e insuficiencia renal. Aunque hay una controversia acerca de la patogenia de esta enfermedad, pero hay unanimidad de criterios en cuanto a que el cadmio es un factor etiológico necesario (Nordberg *et al.*, 2000).

La eliminación del cadmio es muy lenta, y por ello se acumula en el organismo, aumentando su concentración con la edad y el tiempo de exposición. Se ha calculado tomando como base un mismo órgano a diferentes edades que la vida media biológica del cadmio en el hombre oscila entre 7 y 30 años (Gunnar, 2001).

### **3.7. - Límites de metales pesados para productos de consumo.**

#### **3.7.1. - En agua potable.**

En un principio los estándares de plomo en el agua potable se limitaban a 50µg/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. (U. S. Environmental Protection Agency, 2000).

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 esta 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 (WHO, 2004).

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.

#### **3.7.2. - 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. 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) (Kabelitz y Sievers, 2004).

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.

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 (Kabelitz y Sievers, 2004).

La tabla siguiente muestra límites propuestos para algunos metales pesados:

	Plomo (mg/Kg)	Cadmio (mg/Kg)	Mercurio (mg/Kg)	Arsénico (mg/Kg)
Ministerio de Salud de Alemania (1991) (1).	5,0	0,2	0,1	-
Farmacopea Europea. Monografía "Fucus" (1).	10	4,0	0,1	90
BAH (2002) (1).	10	1,0	0,1	5,0
EC/466/2001 vegetales (2).	-	0,3	0,2	-
2004/61/EC alimentos de origen vegetal (2).	-	-	0,01	-
2004/61/EC Té, lúpulo (1)	-	-	0,02	-

(1) Límites referidos a producto seco (Droga vegetal medicinal).

(2) Límites referidos a productos vegetales frescos, secados

Según la OMS los límites para plomo y cadmio no deben exceder la dosis de 10 y 0.3mg/kg respectivamente en la forma final del material vegetal (WHO, 1999).

Otros límites nacionales propuestos para metales tóxicos en varios tipos de productos de hierbas son mostrados en la siguiente tabla (WHO, 2005):

		Plomo	Cadmio
<b>Para hierbas medicinales</b>			
Canadá	Materias primas Drogas vegetales	10ppm	0,3ppm
	Productos terminados a base de drogas vegetales	0,02mg/día	0,006mg/día
China	Materias primas Drogas vegetales	10ppm	1ppm
	Productos terminados a base de drogas vegetales	10mg/kg	-
Singapur	Productos terminados a base de drogas vegetales	20ppm	-
Tailandia	Materias primas Drogas vegetales	10ppm	0,3ppm
	Productos terminados a base de drogas vegetales		
OMS		10mg/kg	0,3mg/kg
<b>Para otros productos herbarios</b>			
Fundación Nacional de Saneamiento (documento de trabajo). (Materias primas de Suplementos dietarios)*		10ppm	0.3ppm
Fundación Nacional de Saneamiento (documento de trabajo). (Suplementos dietarios –producto terminado)*		0.02mg/día	0.006mg/día

\*Dietary supplements - NSF International Draft Standard (Draft Standard NSF 173-2001), National Sanitation Foundation International, Ann Arbor, Michigan, USA, 2001.

### 3.8. - Descripción, composición y actividad farmacológica de las muestras analizadas.

#### 3.8.1. - Ginkgo biloba L.

El *Ginkgo biloba* L. es la especie arbórea más antigua del mundo. Es originario de China y el único representante de la familia *Ginkgoaceae* conocido popularmente como ginkgo y árbol de los 40 escudos. Es un árbol caducifolio dioico que puede llegar a una altura de 30 metros y sus hojas poseen una forma de abanico característica (Alonso, 1998; Morales *et al.*, 2000).

Es un árbol considerado sagrado en China y Japón y es común en plantaciones para la producción de productos medicinales en China, Japón, Corea y Francia. En Europa, más precisamente en la región de Burdeos (Francia), se llevan a cabo importantes cultivos de *G. biloba*. En Oriente, las hojas se recolectan a comienzos de otoño y se envían a Europa para su posterior comercialización, siendo Corea el principal exportador (Alonso, 1998).

Se utilizan sus hojas y está compuesto químicamente por flavonoides (kaempferol, quercetina), biflavonas (ginkgetina, isoginkgetina, bilobetina), terpenos (ginkgólidos A, B, C, J, M y bilobálidos), otras sustancias (leucoantocianidinas, etc.) y contiene también pequeñas cantidades de ácido ginkgólico (Morales *et al.*, 2000; Gurib-Fakim, 2006).

Las principales acciones terapéuticas están centradas en tres aspectos prioritarios: actividad circulatoria, actividad antiagregante y actividad antioxidante. Los flavonoides actúan como elementos depuradores de los radicales libres, mientras que los terpenos (en especial el ginkgólido B) inhiben al factor activador de plaquetas (PAF). Tanto el PAF como los radicales libres tienen la facultad de poder erosionar las membranas vasculares determinando así un aumento en la permeabilidad de las mismas y la alteración del flujo cerebral, del metabolismo neuronal y de la actividad de los neurotransmisores (Alonso, 1998; Castellone Varona y Atienza Morales, 2005).

Desde hace siglos en China las semillas de ginkgo han sido utilizadas en acupuntura sobre los meridianos pertenecientes al pulmón y riñón promoviendo cambios en el asma y la bronquitis. La infusión de las hojas de ginkgo se utiliza como diurético o para combatir problemas circulatorios; para ello se preparan 50g de hojas secas en 500ml de agua para beber tres tazas al día (Alonso, 1998).

El Ginkgo se encuentra descrito dentro de las farmacopeas de China, Francia y Alemania pero no se encuentra su monografía en la Farmacopea Nacional Argentina (Alonso, 1998)

### 3.8.2. - *Passiflora coerulea* L.

Se conoce popularmente como pasiflora, pasionaria, maracuyá (Brasil), granadilla (Perú) o flor de la pasión. Es un tipo de enredadera arbustiva perteneciente a la familia de las *Pasifloráceas*. Esta familia está comprendida por doce géneros con unas 600 especies originarias de regiones tropicales y subtropicales de América y África (Alonso, 1998).

Al género pasiflora pertenecen alrededor de 400 especies, la gran mayoría americanas, que habitan desde Centroamérica hasta la Argentina. Los principales cultivos corresponden a Estados Unidos, norte de África, Italia, Polonia, Israel, España y sur de Francia. En nuestro país existirían alrededor de 18 especies, algunas nativas y otras exóticas, preferentemente en las provincias del noroeste, Mesopotamia, Córdoba y en la ribera del Plata podemos encontrar *Passiflora coerulea* L. (Alonso, 1998).

Se utilizan sus partes aéreas (hojas, flores, frutos) y en ocasiones la raíz. Está compuesto químicamente por alcaloides indólicos (pasiflorina, harmina, harmanol, harmol y harmalina), flavonósidos (vitexina, isovitexina, glucósidos de la luteolina, kampferol, quercetina, apigenina, saponarina, crisina, neohesperidina, luteolol) esteroides (estigmasterol, sitosterol, n-onacosano) y otros compuestos (Carretero Accame, 2001<sub>a</sub>).

La pasiflora se utiliza farmacológicamente como ansiolítico debido a la presencia del flavonoide crisina que posee una estructura similar a las sustancias afines de los receptores GABA-A. Genera un sueño similar al fisiológico. La cumarina presente en esta hierba presenta acciones antirémicas, analgesia y antiinflamatoria (Alonso, 1998; Attele *et al.*, 2000; Carretero Accame, 2001<sub>a</sub>).

Tradicionalmente se ha utilizado pasiflora para la ansiedad, tensión nerviosa e insomnio. Otros usos incluyen la acción diurética, espasmolítica, anticonceptiva, etc. El extracto seco de pasiflora (5-10:1) se administra entre 200mg y 500mg diarios (Alonso, 1998).

Se encuentra registrada por las farmacopeas de Alemania, Bélgica, Brasil, Egipto, España, Estados Unidos, Suiza, Francia y el Reino Unido. El Consejo Europeo la cataloga en la categoría N3 (Alonso, 1998).

### 3.8.3. - *Cynara scolimus* L.

*Cynara scolimus* L., alcachofa, alcaucil, alcachofera ó cynara es una planta perenne, perteneciente a la familia de las *Compuestas*. Es una de las plantas medicinales más antiguas, conocida por los antiguos egipcios, griegos y romanos. Es originaria de África y actualmente se distribuye en climas templados y subtropicales, con suelos ricos en humus y bien abonados (Alonso, 1998; Li *et al.*, 2004).

Se utilizan preferentemente las hojas del primer año y en menor medida la raíz. Los capítulos carnosos o receptáculos florales inmaduros son los que se emplean como alimento. La composición química consta de principios amargos (cinarina, cinaropicrina y grosheimina), ácidos fenólicos (cafeico, clorogénico, criptoclorogénico, 1,4 y 1,5 orto dicafeilquinico), ácidos-alcoholes alifáticos (cítrico, glicérico, fumárico, glicólico, hidroximetilacrílico, láctico, málico y succínico) y otros compuestos (Alonso, 1998).

La cinarina le confiere propiedades coleréticas, colagogas, hepatoprotectoras e hipocolesterolemiantes, sinergizado por los alcoholes ortodifenólicos. Otro principio, la cinaropicrina ejerce una acción aperitiva y eupéptica. La acción conjunta de las sales de potasio, junto a los flavonoides, las sustancias ácidas y la inulina, le confieren actividad diurética a esta planta. También se han estudiado sus efectos hipocolesterolemiantes (Alonso, 1998; Li *et al.*, 2004).

Desde hace tiempo la alcachofa se utiliza como tisana digestiva o diurética. Su infusión se prepara con hojas frescas a razón de 10g/l y su dosis puede aumentar hasta 50g/l para el funcionamiento vesicular y como hipolipemiante, hepatoprotector o detoxificante. (Alonso, 1998).

Las hojas de alcachofa están aprobadas como suplemento dietario por la FDA (por *Food and Drug Administration*), para ser usadas como saborizante de bebidas alcohólicas. También están aprobadas

por el Consejo Europeo de Productos Naturales, bajo la categoría N2, lo cual indica que puede añadirse en pequeñas cantidades en productos catalogados como alimentos. Figura en la Farmacopea Nacional Argentina VI Edición (Alonso, 1998).

#### 3.8.4. - *Peumus boldus* M.

El Boldo pertenece a la familia de las Monimiaceae. Es un arbusto perenne originario de Chile y fue introducido en otras regiones de clima cálido. Es también cultivado en países como Marruecos e Italia (Alonso, 1998; Carretero Accame, 2001<sub>b</sub>).

Se utilizan sus hojas y también la corteza para la extracción de su principal principio activo, la boldina. Además posee en su composición química aceite volátil o esencial (ascaridol y cineol principalmente), alcaloides (boldina, isoboldina, N-metil-laurotetanina, sinoacutina, esparteína, isocoridina, nor-isocoridina, laurilitina, reticulita, paquicarpina, morfinandienona, sinoacutina y proaporfina), glucósido (boldoglucina) y derivados flavónicos (peumósido, boldósido, ramnetol, kaempferol), entre otros (Alonso, 1998).

Las hojas de boldo poseen propiedades hepatoprotectoras y coleréticas debido a la boldina. Presenta también actividad como estimulante hepático, sedante, demulcente urinario suave y antiséptico. Se ha utilizado en cálculos biliares, disfunciones hepáticas o de la vesícula biliar, en cistitis y en colelitiasis (Carretero Accame, 2001<sub>b</sub>).

En los países cultivadores e importadores de boldo se utilizan infusiones de sus hojas (10g/l) como regulador digestivo, sedante y para el reuma (Alonso, 1998).

Se encuentra inscripto en la Farmacopea Nacional Argentina desde la primera edición y está aprobado por la FDA. También figura en las farmacopeas de Alemania, Brasil, Chile, Egipto, Francia, Inglaterra, Italia, República Checa, Rumania y Suiza. El consejo Europeo lo ha catalogado en la categoría N3 como suplemento dietario (Alonso, 1998).

#### 3.8.5. - *Fucus vesiculosus* L.

Es comúnmente conocido como fucus, fuco, varec, encina de mar ó sargazo vesiculoso. Es un alga marina perteneciente a la familia de las *Fucáceas*. Crece extensamente, de manera silvestre, en aguas poco profundas de las costas atlánticas nororientales, principalmente en el Canal de la Mancha, Mar Báltico, Mar del Norte, Bretaña, costas de la Península Ibérica y en las costas del este de los Estados Unidos. En algunas costas del Océano Atlántico cubren grandes superficies, siendo conocidas esas áreas como mar de los sargazos (Alonso, 1998; Ramazanov, s. f.).

Del fucus se utilizan sus ramas laterales del talo o la planta entera disecada y esta compuesto químicamente por oligoelementos y sales minerales caracterizándose por el alto contenido de yodo. Posee mucílagos (ácido algínico), glucosanos solubles (laminarian y fucoidina) y otros (fenoles, ácido acrílico, polisacáridos, etc) (Alonso, 1998; Burtin, 2003).

El fucus es muy empleado medicinalmente como suplemento dietario en casos de obesidad y endocrinopatías. Proporciona un efecto laxante por la presencia de ácido algínico, tiene poder demulcente y adherente protegiendo así la mucosa gástrica por lo que es empleado para problemas del sistema digestivo. Se utiliza para el tratamiento del hipotiroidismo debido a su alto contenido en yodo (Alonso, 1998).

Popularmente se utiliza para el tratamiento de la obesidad y por presunción de que posee metales pesados se recomienda que sea expandido y consumido en cápsulas o comprimidos para los cuales se utilizan 200mg – 500mg de extracto seco (5:1) (Alonso, 1998).

El Consejo de Europa ha catalogado al fucus en la categoría N2 correspondiente a alimentos y/o saborizantes naturales con limitaciones durante la dosificación de su empleo (Alonso, 1998).

#### 3.8.6. - *Zea mays* L.

El maíz tuvo su origen en América Central y desde allí se difundió hacia toda América. Fue un producto esencial de las culturas maya y azteca. Tras el descubrimiento del continente americano fue introducido en Europa. Actualmente se cultiva en todas las latitudes de la tierra (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos, s. f.).

Es una planta herbácea perteneciente a las *Gramíneas*. Se utilizan los estilos y estigmas (barba de choclo) y la fracción insaponificable del aceite de germen de maíz. La composición química en los estilos y estigmas es de saponinas, fitoesteroles (sitosterol y estigmasterol), alantoína, betaína, taninos, resinas, goma, fermentos, flavonoides, antocianidinas, sales minerales, trazas de aceite esencial, carvacrol, ácido salicílico, ácido maizérico, mucílagos, vitamina C y K, entre otros (Alonso, 1998).

En sus semillas se encuentran abundantes ácidos grasos poliinsaturados (ácido oléico, linoléico, palmítico y esteárico) aminoácidos, almidón, carotenoides, dextrina, sustancias nitrogenadas (zeína, edestina, maicina), vitamina E, etc. En las hojas se encuentra el alcaloide hordenina, ácidos orgánicos y cianogénicos.

Una de sus principales acciones farmacológicas reconocidas a los estilos de maíz es la actividad diurética ejercida por la presencia de flavonoides, goma y sales potásicas. También los fermentos, taninos y alantoína que posee el maíz han demostrado otorgarle propiedades hipoglucemiantes, astringente, demulcente, antiinflamatoria y reepitelizante. El aceite del germen de maíz presenta abundante ácidos grasos insaturados, lo cual resulta útil en casos de hipercolesterolemia. En cuanto a la fracción insaponificable del aceite del germen de maíz, la misma posee propiedades antiinflamatorias y antiradicales (Alonso, 1998).

Los estilos y estigmas de maíz se emplean popularmente por sus propiedades diuréticas en casos de edemas, eliguria, hipertensión arterial, infecciones urinaria, gota, abortivo, etc. Se utiliza una infusión al 5-10% a razón de 2-3 tazas al día.

Se encuentra registrado en la Farmacopea Nacional Argentina IV edición y por las farmacopeas de Alemania, Bulgaria, Corea, China, Egipto, Francia, Holanda, India, Italia, Japón, México, Reino Unido, Suiza, EE. UU., Vietnam y Yugoslavia entre otras. En EE. UU: figura dentro del listado GRAS que significa especie segura para uso humano (Alonso, 1998).

### 3.8.7. - *Hydrocotyle asiatica* L.

La centella asiática o gotu-kola es una hierba trepadora perenne pequeña perteneciente a la familia de las *Umbelíferas*. Es nativa de India, China, Indonesia, Australia, Madagascar y África.

Terapéuticamente pueden utilizarse sus hojas o la planta entera y es utilizada en varios países en la medicina ayurvedica (Alonso, 1998).

Está compuesta químicamente por saponósidos triterpénicos (asiaticosido), ácidos triterpénicos (ácido indocentoico y ácido madecásico), alcaloide (hidrocotilina), principio amargo (vallerina), flavonoides (kempferol, 3-glucosil-quecetina, 3-glucosil-kempferol), ácidos grasos (ácido linoléico, lignocérico, linolénico, oléico, palmítico y esteárico) y otros (resina, ácido péctico, taninos, aceite volátil, vitamina C, azúcares, fitosteroles, mucílagos, etc (Banerjee et al., s. f.; Alonso, 1998).

Los triterpenos de la centella han demostrado ser una de las armas más eficaces contra los casos de celulitis leves a moderadas produciendo un desarrollo de tejido conectivo normal y un correcto proceso de reepitelización. El asiaticosido estimula el sistema reticuloendotelial es por ello que la centella se ha usado popularmente sobre las lesiones leprosas y tuberculosas cutáneas (Alonso, 1998).

En muchas preparaciones ayurvedicas es empleada por poseer propiedades antileprolicas, antiinflamatorias, antialérgicas. Es estimulante de la circulación y de la diuresis, buen hipotensor y cicatrizante (Banerjee et al., s. f.). Se emplean infusiones de centella al 1% a razón de tres tazas diarias (Alonso, 1998).

Se encuentra incorporada a la farmacopea China, pero no está registrado como alimento en Europa ni en Estados Unidos (Alonso, 1998).

### 3.8.8. - *Cassia senna* L.

Es popularmente conocida como sen, sen de la India, sen de Tinnivelly, senna. Se trata de un subarbusto perenne, perteneciente a la familia de las *Cesalpiniáceas*, originario del sur de la Península Arábiga, Punjab y Somalia, siendo posteriormente introducido en el sur de la India, en especial en los territorios de Madura, Mysore y Tinnivelly donde se cultiva. Crece de manera silvestre preferentemente en zonas desérticas. (Alonso, 1998).

Se utilizan sus hojas (foliolas) y la vaina de los frutos (legumbres). Está compuesta químicamente por antraquinonas (antrocenosidos como los senósidos A, B, C y D), antraquinonas libres (aloe-emodina, crisofanol, reína y sus respectivos glucósidos), hidratos de carbono (mucílagos, galactomanan y azúcares libres), flavonoides (kempferol e isoramnetina) y otros compuestos (aceite esencial, glucósidos, ácido crisofánico, ácido salicílico, saponina, resina, fitoesteroles, minerales y derivados naftalénicos) (Alonso, 1998; Shrivastava et al., 2006).

El sen es una especie identificada con la actividad emuntorial intestinal. Provoca un efecto laxante. Los glucosidos antracénicos y las antraquinonas son absorbidas desde el tracto gastrointestinal, liberándose agliconas que tras su metabolización por el colon proporcionan una estimulación de la peristaltis (Alonso, 1998).

Su uso más importante en la medicina popular se refiere a la actividad laxante mediante la toma de una o dos infusiones diarias (1%) del extracto seco (4:1, 0,5g a 1g diario) (Alonso, 1998).

El fruto se encuentra registrado por la gran mayoría de las farmacopeas incluyendo las de Alemania, Argentina (VI edición), Australia, Bélgica, Egipto, Europea, Francia, Holanda, Hungría, India, Italia, Noruega, Portugal, Reino Unido, República Checa y suiza entre otras. Las hojas están incluidas en las mismas farmacopeas y en las de Brasil, China, España, Estados Unidos, Japón, México y Rusia. Se encuentra registrado por el Consejo Europeo como recurso natural alimentario o saborizante en categoría N2 (Alonso, 1998).

## 4. - Materiales y métodos

### 4.1. - Material vegetal.

El material vegetal utilizado fue:



*Ginkgo biloba* L. (hojas)



*Peumus boldus* M. (hojas)



*Fucus vesicu*



*Cassia senna* L. (hojas)



*Cynara scolymus* L. (hojas)



*Passiflora co*  
flores)



Las drogas vegetales fueron certificadas por la Dra. E. Spegazzini, directora del LABRAM (Laboratorio de Referencia de Análisis Micrográficos de Plantas Medicinales, Alimenticias y Tóxicas) de la Universidad Nacional de La Plata.

Las drogas vegetales analizadas fueron de origen comercial, adquiridas en diferentes herboristerías de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

### 4.2. - Preparación de las muestras.

Todo el material de vidrio utilizado fue prelavado con detergente, descontaminado con ácido nítrico al 20% v/v durante 24 horas y sometido a enjuagues con agua ultrapura.

#### 4.2.1. - Preparación de la droga vegetal.

20g del material vegetal fueron molidos con un molinillo eléctrico a 25000rpm durante 1 minuto a polvo fino. La droga vegetal molida se llevó a peso constante en estufa a 60°C.



#### 4.2.2. - Preparación de las infusiones (Farmacopea Nacional Argentina VI Ed.).

Se pesaron 5,0g de cada muestra y se colocaron en vasos de precipitado de 250ml.

Se añadió a cada una agua ultrapura hirviendo (95°C) y se dejó reposar durante 20 minutos.

Se dejaron enfriar a 40-45°C y se filtraron en un matraz de 100ml.

Se lavaron los residuos y los filtros con cantidad de agua ultrapura hasta completar un volumen final de 100ml.

#### 4.2.3. - Preparación de los cocimientos (Farmacopea Nacional Argentina VI Ed.).

Se pesaron 5,0g de cada muestra y se colocaron en vasos de precipitado de 250ml.

Se añadió a cada una agua ultrapura, se calentaron a ebullición durante 20 minutos.

Se dejaron enfriar a 40° – 45° y se filtraron en un matraz de 100ml.

Se lavaron los residuos y los filtros con cantidad de agua ultrapura hasta completar un volumen final de 100ml.

#### 4.2.4. - Preparación de las soluciones estándar.

En la preparación de las soluciones de calibración y patrón externo, se utilizaron soluciones de distinto lote.

##### *Solución de calibración de plomo.*

Para la preparación de la solución de calibración de plomo se utilizó una solución comercial de plomo de 1.000mg/l con una pureza de  $1.000 \pm 5\text{mg/l}$ .

Se efectuaron las diluciones correspondientes hasta obtener una solución final con una concentración de  $50\mu\text{g/l}$ .

##### *Solución de patrón externo de plomo.*

En la elaboración de la solución de patrón externo se utilizó una solución comercial de plomo de 1.000mg/l con una pureza de  $1.000 \pm 10\text{mg/l}$ .

Se efectuaron las diluciones convenientes hasta alcanzar una solución final con una concentración de  $10\mu\text{g/l}$ .

##### *Solución de calibración de cadmio.*

Para la preparación de la solución de calibración de cadmio se utilizó una solución comercial de cadmio de 1.000mg/l con una pureza de  $1.000 \pm 5\text{mg/l}$ .

Se efectuaron las diluciones correspondientes hasta obtener una solución final con una concentración de  $1,0\mu\text{g/l}$ .

##### *Solución de patrón externo de cadmio.*

En la elaboración de la solución de patrón externo se utilizó una solución comercial de cadmio de 1.000mg/l con una pureza de  $1.000 \pm 10\text{mg/l}$ .

Se efectuaron las diluciones convenientes hasta alcanzar una solución final con una concentración de  $0,5\mu\text{g/l}$ .

*Solución modificadora de matriz de Nitrato de Magnesio 250mg/l.*

En la preparación de la solución modificadora de matriz se utilizó una solución comercial de Nitrato de Magnesio de 10g/l con una pureza de  $10 \pm 0,2$ g/l.

*Solución modificadora de matriz de Nitrato de Paladio 800mg/l.*

En la preparación de la solución modificadora de matriz se utilizó una solución comercial de Nitrato de Paladio de 10g/l con una pureza de  $10 \pm 0,2$ g/l.

**4.3. - Digestión asistida por microondas.**

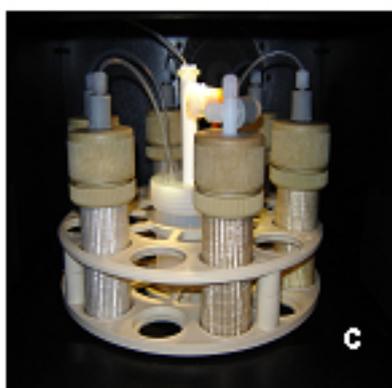
La digestión ácida se realizó sobre las muestras para eliminar algunas posibles interferencias que puedan afectar al resultado final en la determinación de los metales pesados. El ataque en recipientes cerrados, a alta presión, permite evitar pérdidas de analito y aumentar la eficiencia de destrucción de materia orgánica debido a la acción conjunta de presión y temperatura.

**4.3.1. - Equipo utilizado.**

La digestión asistida por microondas se realizó con un equipo, el cual puede operar de 0 a 100% de poder total ( $630 \text{ watts} \pm 50 \text{ watts}$ ), programable en incrementos del 1%. Posee tres puertas de seguridad independientes sincronizadas, incluye un sistema con monitoreo sincronizado y dos interruptores térmicos independientes. El instrumento está equipado con un sistema de bandeja giratoria en la cual se ubica un carrusel con capacidad para 12 vasos de composición avanzada de Teflón PFA.

Los vasos de composición avanzada se ensamblan con sus respectivas cubiertas. Estas cubiertas están constituidas por tubos de descarga en donde se insertan una membrana de ruptura de seguridad para altas presiones.

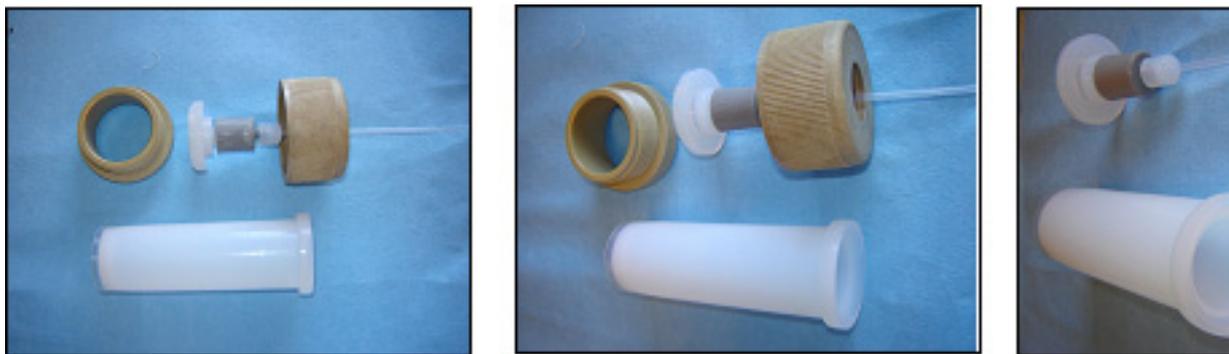
Un teclado con 22 teclas es usado para ingresar datos y controlar los ciclos de calentamiento.



**a** - Digestor microondas marca Cem modelo MDS - 2000.

**b** - Equipo completamente ensamblado.

**c** - Carrusel con sus respectivos vasos.



Vaso teflón PFA® cubierta con tubo de descarga en donde se inserta la membrana

#### 4.3.2. - Metodología utilizada para la digestión de drogas vegetales.

Para el proceso de digestión de las drogas vegetales se utilizó la norma EPA SW-846 método 3051 (digestión ácida asistida por microondas para sedimentos, lodos, suelos y aceites) de la U.S. Environmental Protection Agency.

#### 4.3.3. - Digestión de las drogas vegetales.

Se pesaron 0,5g de cada una de las muestras molidas.

A estas muestras se las colocó en los vasos de Teflón PFA

Se agregó 10ml de  $\text{HNO}_3$  concentrado a cada uno de los vasos.

Se colocaron las tapas a los vasos y se los ubicó en el carrusel.

El proceso de digestión se llevó a cabo a 175-180°C de temperatura y 70-80 psi de presión durante 10 minutos.

Se dejaron enfriar, se filtraron y se lavaron los residuos y los filtros con cantidad de agua ultrapura hasta completar un volumen final de 50ml.

#### 4.3.4. - Digestión de las soluciones de calibración, patrón externo y blanco para la determinación de plomo y cadmio en drogas vegetales.

Se tomaron 40ml de las soluciones de calibración, patrón externo y blanco (agua ultrapura) respectivamente.

Se vertieron en los vasos de Teflón PFA

Se agregó 10ml de  $\text{HNO}_3$  concentrado a cada uno de los vasos.

Se colocaron las tapas a cada uno de los vasos y se los ubicó en el carrusel.

El proceso de digestión se llevó a cabo a 175-180°C de temperatura y 70-80psi de presión durante 10 minutos.

Se dejaron enfriar, se transvasaron cuantitativamente a matraz de 50ml.

Se filtraron las soluciones obtenidas.

#### 4.3.5. - Metodología utilizada para la digestión de las infusiones y cocimientos.

Para el proceso de digestión de las infusiones y los cocimientos se utilizó la norma EPA SW-846 método 3015 (digestión ácida asistida por microondas para muestras acuosas y extractos) de la U.S. Environmental Protection Agency.

#### 4.3.6. - Digestión de las infusiones y cocimientos.

Se tomaron 45ml de cada una de las muestras.

Se vertió las muestras en los vasos de Teflón PFA

Se agregó 5ml de  $\text{HNO}_3$  concentrado a cada uno de los vasos.

Se colocaron las tapas a los vasos y se los ubicó en el carrusel.

El proceso de digestión se llevó a cabo a 175-180°C de temperatura y 70-80 psi de presión durante 20 minutos.

Se dejaron enfriar y se transvasaron cuantitativamente a matraz de 50ml.

Se filtraron las soluciones obtenidas.

#### **4.3.7. - Digestión de las soluciones de calibración, patrón externo y blanco para la determinación de plomo y cadmio en cocimientos e infusiones.**

Se tomaron 45ml de las soluciones de calibración, patrón externo y blanco (agua ultrapura) respectivamente.

Se vertieron en los vasos de Teflón PFA□

Se agregó 5ml de HNO<sub>3</sub> concentrado a cada uno de los vasos.

Se colocaron las tapas a los vasos y se los ubicó en el carrusel.

El proceso de digestión se llevó a cabo a 175-180°C de temperatura y 70-80 psi de presión durante 20 minutos.

Se dejaron enfriar y se transvasaron cuantitativamente a matraz de 50ml.

Se filtraron las soluciones obtenidas.

*En todas las digestiones efectuadas se pesaron los vasos de teflón completamente ensamblados antes y después del proceso, verificando de esta forma que la pérdida de masa no haya sido mayor que el 10%.*

#### **4.4. - Análisis cuantitativo de plomo y cadmio mediante espectrofotometría de absorción atómica.**

##### **4.4.1. - Equipo utilizado.**

Para la detección y cuantificación de plomo y cadmio se utilizó un espectrofotómetro de absorción atómica, con las siguientes características técnicas:

Horno de grafito: atomizador de tubo de grafito totalmente automático

Muestreador automático con identificación numérica de posición.

Corrección de fondo Zeeman.

Intervalo de longitud de onda de 185-900nm.

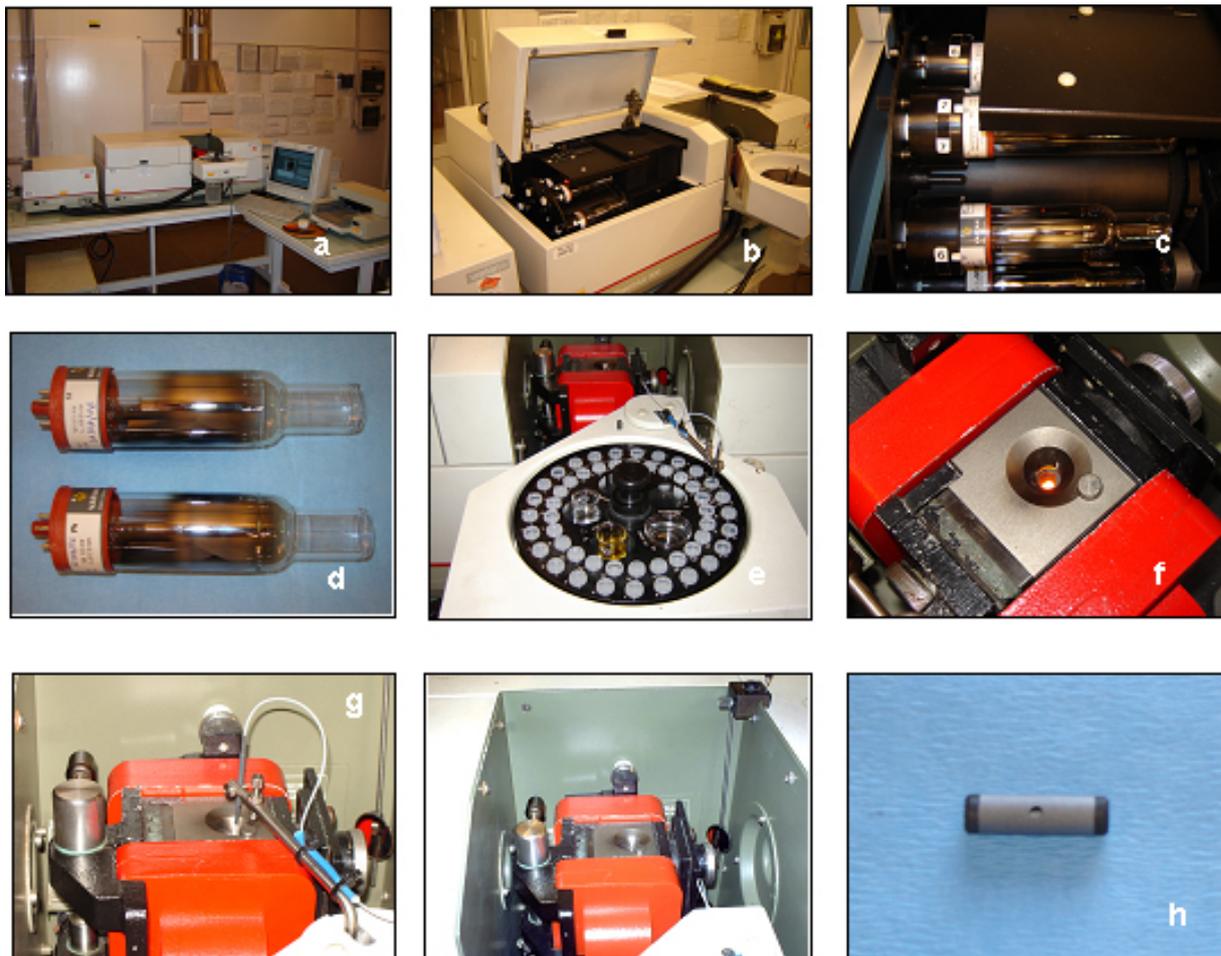
Monocromador automático de micromecanismo 0.33m Czerny Turner con selección y localización de longitud de onda controlados con ordenador.

Selección automática de ancho de rendija. Selecciones: 0,1; 0,2; 0,5 y 1,0nm más una altura de rendija reducida para trabajo con horno de grafito.

Red holográfica de difracción con 1.800 líneas/mm a 240nm.

Fotomultiplicador de alta sensibilidad para máximas prestaciones señal ruido.

Torreta de 8 lámparas totalmente automática.



**a** - Espectrofotómetro de Absorción Atómica marca Varian modelo SpectAA 800 Zeeman. **b** - Módulo del instrumento en donde se encuentran las lámparas de cátodo hueco. **c** - Torreta en la cual se insertan las lámparas. **d** - Lámparas de cátodo hueco de plomo y cadmio. **e** - Muestreador automático, carrusel, viales y recipiente de vidrio. **f** - Horno de grafito atomizando la muestra. **g** - Capilar de toma de muestra en la etapa de inyección en la celda de grafito de la muestra a analizar. **h** - celda de grafito.

#### 4.4.2. - Método de detección y cuantificación de plomo y cadmio en drogas vegetales, cocimientos e infusiones.

En la detección y cuantificación de plomo y cadmio en las drogas vegetales se utilizaron las muestras nombradas en el punto 4.3.1. Para la detección y cuantificación de plomo y cadmio en los cocimientos e infusiones se utilizaron las muestras mencionadas en el punto 4.3.2.

Para ambos metales se utilizó el método para espectrofotometría de absorción atómica electrotrémica 3113B (Standard Methods for Examination of Water and Wastewater, 2005<sub>a</sub>).

Luego de acondicionar y optimizar el instrumento, se procedió a determinar plomo y cadmio por horno de grafito en secuencias desiguales. Se seleccionó la longitud de onda de 283.3nm y 228.8nm para plomo y cadmio individualmente.

#### 4.4.3. - Modo operativo.

El equipo preparó por dilución automática la curva de calibración según lo descrito en los cuadros siguientes:

Plomo.

Estándar N°	Solución de calibración (μl)	Agua ultra-pura (μl)	Modificador de matriz de Nitrato de Paladio (μl)	Modificador de matriz de Nitrato de magnesio (μl)	Volumen total (μl)	Concentración (μg/l)
1	2	24	2	4	32	5
2	4	22	2	4	32	10
3	6	20	2	4	32	15
4	8	18	2	4	32	20
5	12	14	2	4	32	30

## Cadmio.

Estándar N°	Solución de calibración (μl)	Agua ultra-pura (μl)	Modificador de matriz de Nitrato de Paladio (μl)	Modificador de matriz de Nitrato de magnesio (μl)	Volumen total (μl)	Concentración (μg/l)
1	2	20	4	4	30	0.1
2	4	18	4	4	30	0.2
3	8	14	4	4	30	0.4
4	12	10	4	4	30	0.6
5	20	2	4	4	30	1.0

Luego de preparar automáticamente la curva de calibración, el equipo procedió a leer el blanco de digestión, el patrón externo y las muestras; culminando la corrida con la lectura nuevamente del blanco de digestión y el patrón externo.

**Condiciones de trabajo del equipo para la determinación de plomo.**

Método:	Pb Zeeman.
Elemento-Matriz:	Pb-sólidos/líquidos.
Tipo de Instrumento:	Zeeman.
Unidad de concentración:	μg/l
Modo de instrumento:	Absorbancia.
Modo de muestreo:	Automático.
Modo de medición:	Área de pico.
Replicados del estándar:	3
Replicados de muestra:	3
Factor de expansión:	1,0
Decimales en la concentración:	2
Longitud de onda:	283,3nm
Ancho de rendija:	0,5nm
EHT:	277 volts
Corriente de la lámpara:	10 mA
Corrección de fondo:	Activa
Estándar 1:	5,0 μg/l

Estándar 2:	10 µg/l
Estándar 3:	15 µg/l
Estándar 4:	20 µg/l
Estándar 5:	30 µg/l
Aseguramiento de curva de calibración:	Cada 12 muestras.
Aseguramiento utilizando estándar nro.:	2
Límite inferior de aseguramiento:	75%
Límite superior de aseguramiento:	125%
Recalibración:	Cada 24 muestras.
Calibración Algorítmica:	Origen lineal.
Límite inferior de calibración:	20%
Límite superior de calibración:	150%
Volumen total:	32 µl
Volumen de muestra:	20µl
Concentración de solución de calibración:	50 µg/l
Modificador de matriz 1 modo:	Pre inyección.
Volumen de modificador de matriz 1:	2 µl
Modificador de matriz 2 modo:	Pre inyección.
Volumen de modificador de matriz 2:	4 µl

**Condiciones del horno:**

Etapa	Temp (°C)	Tiempo (seg)	Flujo de gas (L/ min.)	Tipo de gas	Lectura	Almacenamiento de señal
1	85	5,0	3,0	Nitrógeno	No	No
2	95	40	3,0	Nitrógeno	No	No
3	120	10	3,0	Argón	No	No
4	400	5,0	3,0	Argón	No	No
5	400	1,0	3,0	Argón	No	No
6	400	2,0	0,0	Argón	No	Si
7	1900	1,0	0,0	Argón	Si	Si
8	1900	3,0	0,0	Argón	Si	Si
9	1900	1,0	3,0	Argón	No	Si

**Condiciones de trabajo del equipo para la determinación de cadmio.**

Método:	Cd Zeeman
Elemento-Matriz:	Cd-sólidos/líquidos
Tipo de instrumento:	Zeeman.
Unidad de concentración:	µg/l
Modo de instrumento:	Absorbancia.
Modo de muestreo:	Automático.
Modo de medición:	Altura de pico.
Replicados del estándar:	3
Replicados de las muestras:	3
Factor de expansión:	1,0
Decimales en la concentración:	3
Longitud de onda:	228,8
Ancho de rendija:	0,5nm

EHT:	334 volts
Corriente de la lámpara:	4,0 mA
Corrección de fondo:	Activa.
Estándar 1:	0,1 µg/l
Estándar 2:	0,2 µg/l
Estándar 3:	0,4 µg/l
Estándar 4:	0,6 µg/l
Estándar 5:	1,0 µg/l
Aseguramiento de curva de calibración:	Cada 12 muestras.
Aseguramiento utilizando estándar nro.:	2
Límite inferior de aseguramiento:	75%
Límite superior de aseguramiento:	125%
Recalibración:	Cada 24 muestras
Calibración Algorítmica:	Origen lineal
Límite inferior de calibración:	20%
Límite superior de calibración:	150%
Volumen total:	30 µl
Volumen de muestra:	20 µl
Concentración de la solución de calibración:	1.0 µg/l
Modificador de matriz 1 modo:	Pre inyección.
Volumen de modificador de matriz 1:	4 µl
Modificador de matriz 2 modo:	Pre inyección.
Volumen de modificador de matriz 2:	4 µl

#### Condiciones del horno:

Etapa	Temp. (°C)	Tiempo (seg.)	Flujo de gas (L/min.)	Tipo de gas	Lectura	Almacenamiento de señal
1	85	5,0	3,0	Nitrógeno	No	No
2	95	40	3,0	Nitrógeno	No	No
3	120	10	3,0	Argón	No	No
4	800	5,0	3,0	Argón	No	No
5	800	1,0	3,0	Argón	No	No
6	800	2,0	0,0	Argón	No	Si
7	1700	0,7	0,0	Argón	Si	Si
8	1700	2,0	0,0	Argón	Si	Si
9	1700	2,0	3,0	Argón	No	Si

#### 4.5. - Control de calidad del método utilizado.

##### 4.5.1. - Matriz fortificada de laboratorio.

Una matriz fortificada de laboratorio (LFM por *Laboratory-Fortified Matrix*) es una porción adicional de muestra en donde una cantidad conocida del analito de interés es agregado antes de la preparación de la muestra y el volumen de agregado es despreciable para no modificar la matriz (Standard Methods for Examination of Water and Wastewater, 2005<sub>b</sub>).

En el cálculo del porcentaje de recuperación se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de recuperación} = \left[ \frac{(\text{resultado de LFM} - \text{resultado de la muestra})}{(\text{concentración del agregado conocido de LFM})} \right] \times 100$$

Este ensayo es utilizado para evaluar la recuperación del analito en una matriz determinada y se aplica como criterio de aceptación un porcentaje de recuperación entre 85-115%.

Las muestras seleccionadas para el siguiente ensayo se digirieron según la norma EPA SW-846 método 3015 (digestión ácida asistida por microondas para muestras acuosas y extractos) de la U.S. Environmental Protection Agency y para la determinación de plomo y cadmio se utilizó el método para espectrofotometría de absorción atómica electrotrémica 3113B (Standard Methods for Examination of Water and Wastewater, 2005<sub>a</sub>).

#### **Agregado patrón de 10µg/l de plomo sobre cocimientos e infusiones**

En la elaboración de la solución agregado patrón se utilizó una solución comercial de plomo de 1.000mg/l con una pureza de  $1.000 \pm 10$ mg/l.

Se efectuaron las diluciones convenientes hasta alcanzar una solución final con una concentración de 500µg/l de plomo.

El modo de preparación del agregado patrón sobre las muestras fue de la siguiente forma:

A 50ml de las muestras seleccionadas se agregó 1,0ml de la solución de 500µg/l de plomo y se mezcló por inversión.

Se tomaron 45ml de las muestras con el agregado patrón.

Se vertieron en los vasos de Teflón PFA□

Se agregó 5ml de HNO<sub>3</sub> concentrado a cada uno de los vasos.

Se colocaron las tapas a los vasos y se los ubicó en el carrusel.

El proceso de digestión se llevó a cabo a 175-180°C de temperatura y 70-80 psi de presión durante 20 minutos.

Se dejaron enfriar y se transvasaron cuantitativamente a matraz de 50ml.

Se filtraron las soluciones obtenidas.

#### **Agregado patrón de 0,40µg/l de cadmio sobre los cocimientos e infusiones.**

En la elaboración de la solución agregado patrón se utilizó una solución comercial de cadmio de 1.000mg/l con una pureza de  $1.000 \pm 10$ mg/l.

Se efectuaron las diluciones convenientes hasta alcanzar una solución final con una concentración de 20µg/l de cadmio.

El modo de preparación del agregado patrón sobre las muestras fue de la siguiente forma:

A 50ml de las muestras seleccionadas se agregó 1,0ml de la solución de 20µg/l de cadmio y se mezcló por inversión.

Se tomaron 45ml de las muestras con el agregado patrón.

Se vertieron en los vasos de Teflón PFA□

Se agregó 5ml de HNO<sub>3</sub> concentrado a cada uno de los vasos.

Se colocaron las tapas a los vasos y se los ubicó en el carrusel.

El proceso de digestión se llevó a cabo a 175-180°C de temperatura y 70-80 psi de presión durante 20 minutos.

Se dejaron enfriar y se transvasaron cuantitativamente a matraz de 50ml.

Se filtraron las soluciones obtenidas.

#### **4.5.2. - Evaluación de calidad del método utilizado para drogas vegetales.**

La evaluación de calidad es un proceso usado para asegurar que las medidas de control de calidad son realizadas como se requiere y para determinar la calidad de los datos producidos por un laboratorio. Eso incluye, ensayos de aptitud, ensayos interlaboratorios y auditorías internas y externas (Standard Methods for Examination of Water and Wastewater, 2005<sub>c</sub>).

El ensayo de aptitud tiene como objeto, obtener una visión general de los errores existentes en un grupo de laboratorios, evaluar la calidad de un laboratorio individual y estimular el interés por la calidad de los resultados generados. Este ensayo consiste en la distribución de una muestra, por un laboratorio organizador, la cual puede tener asignado un valor verdadero. Cada laboratorio participante elige su método y se evalúa el rendimiento por medio de un parámetro denominado "Z score" o "E<sub>n</sub>".



En el año 2005 en el laboratorio central de AySA S. A. se participó de un ensayo de aptitud organizado por un laboratorio gubernamental de Hong Kong con la colaboración de un servicio de acreditación del mismo sitio, en donde se notificaron 38 laboratorios y se determinó la presencia de plomo y cadmio en una mezcla de hierbas medicinales pulverizadas y secas. El ensayo fue denominado APLAC T043 – Programa de ensayo de aptitud de hierbas medicinales (APLAC T043 – Herbal medicine proficiency testing programme).

Para el proceso de digestión de la muestra se utilizó la norma EPA SW-846 método 3051 (digestión ácida asistida por microondas para sedimentos, lodos, suelos y aceites) de la U.S. Environmental Protection Agency y para la determinación de plomo y cadmio se utilizó el método para espectrofotometría de absorción atómica electrotrémica 3113B (Standard Methods for Examination of Water and Wastewater, 2005<sub>a</sub>).

## 5. - Resultados

### 5.1. - Análisis cuantitativo de plomo en drogas vegetales, cocimientos e infusiones.

De las 12 drogas vegetales que fueron examinadas se encontraron concentraciones detectables de plomo en 10 muestras con un rango de 0,51 - 6,4mg/kg. En los cocimientos se encontró plomo en 6 de las 12 muestras analizadas en un rango de 7,3 - 21µg/l y en las infusiones sólo se encontró plomo en 5 de las 12 muestras analizadas en un rango de 8,4 - 13µg/l.

En la tabla siguiente se muestran los resultados obtenidos:

Material vegetal	Parte usada	Droga vegetal (mg/ kg mta seca)	Cocimiento (µg/l)	Infusión (µg/l)
<i>Ginkgo biloba</i> L. (a)	Hojas	3,6 (2,7%)*	18 (9,2%)*	9,6 (2,9%)*
<i>Ginkgo biloba</i> L. (b)	Hojas	6,4 (5,9%)*	19 (12%)*	12 (2,2%)*
<i>Ginkgo biloba</i> L. (c)	Hojas	4,7 (3,7%)*	21 (0,8%)*	13 (0,9%)*
<i>Hydrocotyle asiatica</i> L. (d)	Planta entera	4,6 (7,1%)*	9,9 (3,6%)*	8,4 (4,5%)*
<i>Hydrocotyle asiatica</i> L. (e)	Planta entera	5,1 (13%)*	11 (5,7%)*	8,6 (6,3%)*
<i>Passiflora coerulea</i> L. (f)	Hojas-flores	0,68 (25%)*	7,3 (8,8%)*	<5,0
<i>Passiflora coerulea</i> L. (g)	Hojas-flores	<0,5	<5,0	<5,0
<i>Zea mayz</i> L. (h)	Estilos y estigmas	<0,5	<5,0	<5,0
<i>Cynara scolimus</i> L. (i)	Hojas	1,7 (24%)*	<5,0	<5,0
<i>Fucus vesiculosus</i> L. (j)	Talo	1,3 (8,6%)*	<5,0	<5,0
<i>Peumus boldus</i> M. (k)	Hojas	1,1(10%)*	<5,0	<5,0
<i>Cassia senna</i> L. (l)	Hojas	0,51 (18%)*	<5,0	<5,0

- Las drogas vegetales, cocimientos e infusiones se realizaron por triplicado.

- Las muestras (a) (b) (c) correspondientes a *Ginkgo biloba* L., (d) (e) correspondientes a *Hydrocotyle asiatica* L. y (f) (g) correspondientes a *Passiflora coerulea* L. fueron adquiridas en distintas herboristerías.

- ( )\* Desviación estándar relativa porcentual (% RSD por % *Relative Standar Desviation*).

### 5.2. - Efectos de la extracción acuosa.

Los efectos de la extracción con agua ultrapura hirviendo en forma de infusiones y cocimientos fueron analizados en el presente trabajo. Se calcularon los porcentajes de pasaje de plomo desde las drogas vegetales y los mismos estuvieron dentro del rango de 4,3 – 10% para cocimientos y 3,4 – 5,5% en infusiones.

### 5.3. - Ingesta semanal tolerable provisional (PTWI).

Se realizó el cálculo de la ingesta semanal tolerable provisional de plomo para un infante de 5,0kg y para un adulto de 70kg, utilizando las concentraciones de las infusiones y cocimientos que superaron el valor de 10µg/l.

Para el caso del infante se tomó como promedio de ingesta, 0,75 litros diarios y para el adulto 1,0 litro. En el cuadro siguiente se muestran los resultados:

Muestra	Concentración (µg/l)	Ingesta semanal para infantes (µg)	Ingesta semanal para adultos (µg)
Ginkgo biloba L. (a) cocimiento	18	95	126
Ginkgo biloba L. (b) cocimiento	19	100	133
Ginkgo biloba L. (c) cocimiento	21	110	147
Hydrocotile asiatica L. (e) cocimiento	11	58	77
Ginkgo biloba L. (b) infusión	12	63	84
Ginkgo biloba L. (c) infusión	13	68	91

#### 5.4. - Análisis cuantitativo de cadmio en drogas vegetales, cocimientos e infusiones.

Se detectó cadmio en 10 de las 12 drogas vegetales analizadas con un rango de concentración entre 0,04 – 1,3mg/kg, en 9 de los 12 cocimientos con un rango de concentración entre 0,24 – 6,6µg/l y en 7 de las 12 infusiones con un rango de concentración entre 0,28 – 4,5µg/l.

En la tabla siguiente se muestran los resultados obtenidos:

Material vegetal	Parte usada	Droga vegetal (mg/kg mta seca)	Cocimiento (µg/l)	Infusión (µg/l)
<i>Ginkgo biloba</i> L. (a)	Hojas	0,04 (5,0%)*	0,24 (0,7%)*	<0,1
<i>Ginkgo biloba</i> L. (b)	Hojas	0,05 (9,9%)*	0,28 (6,1%)*	<0,1
<i>Ginkgo biloba</i> L. (c)	Hojas	0,06 (0,8%)*	0,43 (6,7%)*	0,1 (19%)*
<i>Hydrocotile asiatica</i> L. (d)	Planta entera	0,79 (10%)*	2,3 (2,7%)*	2,1 (11%)*
<i>Hydrocotile asiatica</i> L. (e)	Planta entera	1,3 (11%)*	6,6 (2,3%)*	4,5 (3,8%)*
<i>Passiflora coerulea</i> .L. (f)	Hojas-flores	0,15 (4,4%)*	1,3 (1,3%)*	1,2 (2,7%)*
<i>Passiflora coerulea</i> .L. (g)	Hojas-flores	0,15 (3,8%)*	0,55 (1,0%)*	0,35 (0,0%)*
<i>Zea mayz</i> L. (h)	Estilos y estigmas	<0,01	<0,1	<0,1
<i>Cynara scolimus</i> L. (i)	Hojas	0,14 (9,4%)*	0,36 (2,2%)*	0,28 (4,3%)*
<i>Fucus vesiculosus</i> L. (j)	Talo	0,45 (12%)*	3,2 (7,2%)*	2,6 (5,9%)*
<i>Peumus boldus</i> M. (k)	Hojas	0,06 (16%)*	<0,1	<0,1
<i>Cassia senna</i> L. (l)	Hojas	<0,01	<0,1	<0,1

- Las drogas vegetales, cocimientos e infusiones se realizaron por triplicado, tomándose como resultado el valor promedio.
- Las muestras (a) (b) (c) correspondientes a *Ginkgo biloba* L., (d) (e) correspondientes a *Hydrocotile asiatica* L. y (f) (g) correspondientes a *Passiflora coerulea*.L. fueron adquiridas en distintas herboristerías.
- (\*) Desviación estándar relativa porcentual (% RSD por % Relative Standar Desviation).

### 5.5. - Efectos de la extracción acuosa.

Los efectos de la extracción con agua ultrapura hirviendo fueron analizados en el presente trabajo. Se calcularon los porcentajes de pasaje de cadmio desde las drogas vegetales hacia los cocimientos, los mismos estuvieron dentro del rango de 5,1 – 17% y en las infusiones el rango fue de 3,3 – 16%.

### 5.6. - Ingesta semanal tolerable provisional (PTWI).

Se realizó el cálculo de la ingesta semanal tolerable provisional para cadmio para un infante de 5,0kg y para un adulto de 70kg, utilizando las concentraciones de las infusiones y cocimientos que superaron el valor de 3,0µg/l.

Para el caso del infante se tomó como promedio de ingesta, 0,75 litros diarios y para el adulto 1,0 litro. En el cuadro siguiente se muestran los resultados:

Muestra	Concentración (µg/l)	Ingesta semanal para infantes (µg)	Ingesta semanal para adultos (µg)
<i>Hydrocotyle asiatica</i> L. (e) cocimiento	6,6	35	46
<i>Fucus vesiculosus</i> L. (j) cocimiento	3,2	17	22
<i>Hydrocotyle asiatica</i> L. (e) infusión	4,5	24	32

### 5.7. - Control de calidad del método utilizado.

#### 5.7.1. - Matriz fortificada de laboratorio.

*Agregado patrón de 10µg/l de plomo sobre infusiones y cocimientos.*

La recuperación de analito obtenida a partir de los agregados patrón efectuados en las infusiones de *Ginkgo biloba* L. (a), *Ginkgo biloba* L. (b), *Hydrocotyle asiatica* L. (d), *Passiflora coerulea*.L. (g) y cocimientos de *Passiflora coerulea*.L. (f) se encontraron dentro del rango de 86 – 106%.

*Agregado patrón de 0.4µg/l de cadmio sobre infusiones y cocimientos.*

La recuperación de analito obtenida a partir de los agregados patrón efectuados en las infusiones de *Fucus vesiculosus* L. (j) y cocimientos de *Cynara scolimus* L. (i), *Zea mayz* L. (h) se encontraron dentro del rango de 85 – 110%.

#### 5.7.2. - Evaluación de calidad del método utilizado para drogas vegetales.

En el año 2005 se recibió el siguiente informe el cual manifestaba los resultados obtenidos y el laboratorio en donde se efectuó el ensayo de aptitud, denominado con el número 28.

El laboratorio organizador declaró que todos los resultados fueron utilizados en el cálculo de la media y de la desviación standard por robustez estadística. Estos parámetros estadísticos se informaron de la siguiente manera:

	Cadmio (mg/kg)	Plomo (mg/kg)
Media (m)	0,270	1,43
Desviación Standard (sd)	0,0492	0,136

El Z-score se interpretó de la siguiente manera:

(a)	$ z  \leq 2$	Satisfactorio
(b)	$2 <  z  < 3$	Dudoso
(c)	$ z  \geq 3$	Poco satisfactorio

## Informe de resultados.

Código de laboratorio	Cadmio		Plomo	
	Valor medio informado (mg/kg)	Z-score	Valor medio informado (mg/kg)	Z-score
1	0,235	-0,71	1,28	-1,0
2	0,247	-0,46	1,39	-0,26
3	0,301	0,62	1,46	0,28
4	<0,400	--	1,47	0,32
5	0,241	-0,59	1,55	0,93
6	0,287	0,34	1,41	-0,14
7	0,274	0,08	1,46	0,25
8	0,284	0,29	--	--
9	0,310	0,80	--	--
10	0,260	-0,20	1,43	0,01
11	0,251	-0,39	1,42	-0,08
12	0,192	-1,6	--	--
13	0,297	0,55	3,36	14
14	0,159	-2,3	1,51	0,60
15	0,326	1,1	1,38	-0,33
16	0,158	-2,3	1,50	0,58
17	0,259	-0,23	1,32	-0,77
18	0,280	0,19	1,40	-0,19
19	0,312	0,86	1,34	-0,63
20	--	--	5,74	31
21	0,371	2,1	1,14	-2,0
22	0,186	-1,7	1,12	-2,2
23	0,334	1,3	1,42	-0,04
24	0,253	-0,34	1,44	0,08
25	0,294	0,48	1,37	-0,43
26	0,342	1,5	1,50	0,52
27	0,266	-0,08	1,62	1,4
28	0,233	-0,75	1,50	0,54
29	0,273	0,06	1,88	3,3
30	0,224	-0,93	0,953	-3,5
31	0,231	-0,80	0,946	-3,5
32	0,211	-1,2	1,25	-1,3
33	0,332	1,2	1,46	0,23
34	0,294	0,49	1,44	0,08
35	--	--	1,35	-0,58
36	0,323	1,1	1,58	1,1
37	0,274	0,08	1,54	0,84
38	0,274	0,08	1,35	-0,56

## 6. - Discusión

Se evaluó plomo y cadmio en las hierbas medicinales debido a su alto grado de toxicidad y al gran consumo de las mismas en los últimos tiempos. Por este motivo se debería asegurar su calidad realizando distintos controles entre los que se encuentran el análisis de metales pesados.

El método de absorción atómica utilizado para la detección de plomo y cadmio es el que utilizan los organismos internacionales para el análisis de la calidad de las hierbas medicinales. Las drogas vegetales analizadas son ampliamente consumidas por la población en forma de infusiones y cocimientos. La evaluación de plomo y cadmio se realizó en la hierba seca y en las preparaciones de consumo.

Ninguna de las 12 muestras de drogas vegetales analizadas evidenció concentraciones de plomo superiores al valor límite de 10mg/kg sugerido para hierbas medicinales por la Organización Mundial de la Salud. Sin embargo en los cocimientos efectuados con *Hydrocotyle asiatica* L. (e), *Ginkgo biloba* L. (a), (b), (c) y en las infusiones realizadas con *Ginkgo biloba* L. (b) y (c) se detectaron niveles de plomo que excedieron el límite de 10µg/l propuesto por la OMS tomando como guía los valores de referencia de sustancias químicas cuya presencia en agua potable es significativa para la salud. Los resultados obtenidos para las otras infusiones y cocimientos analizados mostraron niveles de plomo inferiores al límite propuesto por la OMS.

Las infusiones y cocimientos que excedieron la cantidad de plomo establecida por la OMS (10µg/l) serían aptas para consumo humano si tenemos en cuenta que, los valores máximos establecidos por la JECFA para la ingestión semanal tolerable provisional (PTWI) de plomo para agua potable son de 1750µg para adultos y 125µg para infantes.

La extracción acuosa sobre las drogas vegetales con niveles de plomo significativos dio como resultado valores que variaron entre 3,4 - 5,5% para las infusiones y 4,3 - 10% para los cocimientos. Estos resultados indicarían que cuando la hierba se consume en forma de cocimiento, el pasaje de plomo hacia la preparación sería mayor. Por otra parte, el rango de porcentaje de pasaje de plomo desde las drogas vegetales hacia los cocimientos e infusiones en las distintas muestras, es variable y esto podría deberse a la solubilidad de los distintos compuestos de plomo con que se encuentran contaminadas las hierbas medicinales.

Con respecto al cadmio, en drogas vegetales, se detectaron concentraciones en *Fucus vesiculosus* L. (j), *Hydrocotyle asiatica* L. (d), *Hydrocotyle asiatica* L. (e) que excedieron el límite de 0,3mg/kg propuesto para hierbas medicinales por la OMS. Las demás drogas vegetales analizadas mostraron concentraciones por debajo de los valores límites propuestos por la OMS. En los cocimientos realizados con *Hydrocotyle asiatica* L. (e), *Fucus vesiculosus* L. (j) y en la infusión realizada con *Hydrocotyle asiatica* L. (e) se hallaron concentraciones de cadmio que excedieron el límite de 3,0µg/l propuesto por la OMS, tomando como guía los valores de referencia de sustancias químicas cuya presencia en el agua potable es significativa para la salud.

Aplicando los valores máximos establecidos por la JECFA de cadmio en agua potable (490µg de cadmio semanal para adultos y 35µg semanal para infantes), se observó que solo el cocimiento realizado con *Hydrocotyle asiatica* L. (e) alcanzó el límite PTWI para un infante de 5,0kg, las demás infusiones y cocimientos serían aptos para consumo humano, aunque el límite sobrepase los 3,0µg/l propuestos por la OMS.

La extracción acuosa sobre las drogas vegetales con valores de cadmio significativos dio como resultado valores que variaron entre 5,1 - 17% en los cocimientos y en las infusiones 3,3 - 16%. Estos resultados también indicarían que cuando la hierba se consume en forma de cocimiento, el pasaje de cadmio hacia la preparación sería mayor. El rango del porcentaje de pasaje de cadmio desde la droga vegetal al agua en las distintas muestras es amplio y esto podría deberse a la solubilidad de los distintos compuestos de cadmio con que se encuentran contaminados.

Evaluando los resultados de los porcentajes de pasaje desde la droga vegetal hacia los cocimientos e infusiones para ambos metales, se observó un mayor porcentaje de extracción en lo referente al cadmio. Posiblemente esta mayor extracción se debió a las solubilidades en agua de los diferentes compuestos de cadmio presente como contaminantes en las drogas vegetales. Por otra parte hay que tener en cuenta que, cuando una droga vegetal se encuentra contaminada en la superficie con sales inorgánicas, es factible que grandes proporciones puedan disolverse en el agua caliente. Sin embargo, cuando las trazas se encuentran orgánicamente unidas a las células el pasaje al té es relativamente bajo.

## 7. Conclusiones

El método utilizado para la determinación de plomo y cadmio por espectrofotometría de absorción atómica usando horno de grafito en drogas vegetales, cocimientos e infusiones mostró resultados satisfactorios, teniendo en cuenta los resultados de las muestras analizadas y los diferentes controles de calidad efectuados (ensayo de aptitud, matriz fortificada de laboratorio y %RSD).

En algunas de las hierbas medicinales analizadas se observaron concentraciones de plomo y cadmio considerables, evidenciando una contaminación que podría resultar de la actividad antropogénica o natural.

Acerca de los límites de metales pesados en drogas vegetales, se deberían unificar los criterios de aceptación a nivel mundial, ya que sobre estos valores hay una evidente disparidad.

Considerando los elevados porcentajes de extracción de plomo y cadmio desde las drogas vegetales hacia los cocimientos se podrían tener en cuenta al momento de fijar valores límites o hacer las recomendaciones para hierbas medicinales con respecto a los metales pesados.

Finalmente, evaluando los resultados obtenidos en las drogas vegetales analizadas surge la necesidad de una mayor intervención por parte de los organismos nacionales de control en lo referente a la calidad de las hierbas medicinales.

## 8. Referencias

- **Acosta de la Luz, L.** Las plantas aromáticas y medicinales, alternativa terapéutica y socioeconómica de los países en desarrollo. [En línea]. Conferencia impartida en III Seminario Internacional del Grupo de Estudios Comparativos Euroafricanos y Eurolatinoamericanos, Universidad de La Habana. (1998) Disponible en: <<http://www.herbotecnia.com.ar/c-articu-005.html>>
- **Agency for Toxic Substance and Disease Registry.** Toxicological profile for cadmium. [En línea] U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service (1999) Disponible en: <<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp5.html>>
- **Agency for Toxic Substance and Disease Registry.** Toxicological profile for lead. [En línea] U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. (2005). Disponible en: <<http://www.atsdr.cdc.gov/tfacts13.pdf>>
- **Alessio L., Odone P., Bertelli G. y Foá V.** Control biológico humano de una serie de compuestos químicos industriales: Cadmio. [En línea] Biblioteca Virtual. Dirección General de Salud Pública. Conselleria de Sanitat. Generalitat Valenciana (1983) Disponible en: <<http://biblioteca.sp.san.gva.es/biblioteca/>>
- **Alonso, J.** Tratado de fitomedicina. Bases clínicas y farmacológicas. Buenos Aires. Ed. ISIS Ediciones. (1998)
- **Attele, A. S., Xie J-T. y Yuan C-S.** Treatment of insomnia: an alternative approach. [En línea] Altern Med Rev. 5 (3) 249-259. (2000) Disponible en: <<http://www.thorne.com/media/insomnia.pdf>>
- **Banerjee S., Zehra M. y Kumar S.** In vitro multiplication of *Centella asiática*, a medicinal herb from leaf explants. [En línea]. Current Science. Indian Academy of Sciences. (s. f.) Disponible en: <<http://www.ias.ac.in/currsci/jan25/articles18.htm>>
- **Burtin P.** Nutritional value of seaweeds. [En línea] Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry. 2 (4) 498-503. (2003) Disponible en: <[http://ejeafche.uvigo.es/2\(4\)2003/017242003.pdf](http://ejeafche.uvigo.es/2(4)2003/017242003.pdf)>
- **Caldas E. D. y Machado L. L.** Cadmium, mercury and lead in medicinal herbs in Brazil. [En línea] Food and Chemical Toxicology 42. pp. 599-603 (2004) Disponible en: <<http://www.unb.br/fs/far/tox/publicacoes/fct2004.pdf>>
- **Chan, K.** Some aspects of toxic contaminants in herbal medicines. [En línea] Chemosphere 52 (9) pp. 1361-71. (2003). Disponible en: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?DB=pubmed>>
- **Carretero Accame M. E.** Alcaloides: derivados del triptófano y otros alcaloides (III) [En línea] Panorama Actual Medicinal. 25 (243): 442-449 (2001<sub>a</sub>) Disponible en: <[http://www.portalfarma.com/pfarma/taxonomia/general/gp000024.nsf/voDocumentos/36F86CD24406AFBBC1256A72002FE9CC/\\$File/plantas\\_med.pdf](http://www.portalfarma.com/pfarma/taxonomia/general/gp000024.nsf/voDocumentos/36F86CD24406AFBBC1256A72002FE9CC/$File/plantas_med.pdf)>
- **Carretero Accame M. E.** Alcaloides: derivados de fenilalanina y tirosina (II) [En línea] Panorama Actual Medicinal. 25 (242) 341-346 (2001<sub>b</sub>) Disponible en: <[http://www.portalfarma.com/pfarma/taxonomia/general/gp000011.nsf/voDocumentos/4DE2A2030B26B6F0C1256A790048D68C/\\$File/242.pdf](http://www.portalfarma.com/pfarma/taxonomia/general/gp000011.nsf/voDocumentos/4DE2A2030B26B6F0C1256A790048D68C/$File/242.pdf)>

- **Castellone Varona F. J. Y Atienza Morales M. P.** *Ginkgo biloba* y hemorragia cerebral. [En línea] En: Cartas al director. Anales de Medicina Interna. Vol 22. No. 4 (2005) Disponible en: <<http://www.scielo.isciii.es/pdf/ami/v22n4/carta7.pdf>>
- **Código Alimentario Argentino.** Bebidas hídricas, agua y agua gasificada. [En línea] Capítulo XII. Art. 982-1079. (2004) Disponible en: <<http://www.anmat.gov.ar>>
- **De Smet P. A. G. M., Keller K., Hänsel R. and Chandler R. F.** Adverse effects of herbal drugs. Volume 1. pp. 34-72. Springer-Verlag. (1996)
- **Dewivedi S.K. and Dey S.** Medicinal herbs: a potential source of toxic metal exposure for man and animals in India. [En línea] Arch Environ Health. 57 (3) pp. 229-31. (2002) Disponible en: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?DB=pubmed>>
- **Eissa B. L., Salibian A., Ferrari L., Porta P. y Borgnia M.** Evaluación toxicológica no invasiva del cadmio: modificaciones de biomarcadores conductuales en *Cyprinus carpio*. [En línea] Biología Acuática. Nro. 20 (2003). Disponible en: <[http://www.ilpla.edu.ar/ilpla/ba/data/ba20/56\\_62.pdf](http://www.ilpla.edu.ar/ilpla/ba/data/ba20/56_62.pdf)>
- **Farmacopea Nacional Argentina.** VI Edición. II Parte. Monografías. pp. 370; 581. (1978).
- **Ferrer, A.** Intoxicación por metales. [En línea] ANALES Sis San Navarra 26 (Supl. I): 141-153. (2003). Disponible en: <<http://www.scielo.isciii.es/pdf/asisna/v26s1/ocho.pdf>>
- **Godt J., Scheidig F., Grosse-Siestrup C., Esche V., Brandenburg P., Reich A. Y Gronenberg D. A.** The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health. [En línea] Journal of Occupational Medicine and Toxicology. 1:22. (2006). Disponible en: <<http://www.occup-med.com/content/1/1/22>>
- **Gunnar N.** Metales: propiedades químicas y toxicidad. [En línea] En: Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo. 4ª Edición. Organización Internacional del Trabajo. Capítulo 63. pp. 63.39-63.44 (2001). Disponible en: <<http://www.ilo.org/public/spanish/index.htm>>
- **Gurib-Fakim, A.** Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. Molecular Aspects of Medicine. 27 1-93. (2006).
- **Islam E. U., Yang X., He Z. and Mahmood Q.** Assessing potential dietary toxicity of heavy metals in selected vegetables and food crops. [En línea] Journal of Zhejiang University Science. 8 (1) pp. 1-13. (2007) Disponible en: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1764924>>
- **Kabelitz L. and Sievers H.** Contaminants of medicinal and food herbs with a view to EU regulations. [En línea] Innovations in Food Technology. (2004) Disponible en: <[http://www.phytolab.de/media/Phy\\_INFT.pdf](http://www.phytolab.de/media/Phy_INFT.pdf)>
- **Kamboj. V. P.** Herbal medicine. [En línea]. Current Science. Vol. 78. No. 1, 10. (2000). Disponible en <<http://www.ias.ac.in/currsci/jan102000/GENERALARTICLES.PDF>>
- **Langley A., Gilbey M. Y Kennedy B.** Proceedings of the national workshop on the assessment of side contamination. [En línea]. Heavy metals phytotoxicity in soils. Environmental Protection & Heritage Council. (2003). Disponible en: <[http://www.ephc.gov.au/nepms/cs/workshop\\_con\\_sites.html](http://www.ephc.gov.au/nepms/cs/workshop_con_sites.html)>
- **Li H., Xia N., Brausch I., Yao Y., y Förstemann U.** Flavonoids from artichoke (*Cynara scolymus* L.) up-regulate endothelial type nitric oxide synthase gene expression in human endothelial cells. [En línea] The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. Vol. 310 No. 3 (2004). Disponible en: <<http://jpet.aspetjournals.org/cgi/content/abstract/310/3/926>>
- **López C. M., Piñeiro A. E., Pongelli V., Villamil Lepori E.C. y Roses O. E.** Valores referenciales de plomemia en el área de Buenos Aires. Población adulta sana no expuesta laboralmente [En línea] Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana. V. 39 No. 4. La Plata (2005) Disponible en: <[http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S032529572005000400006&script=sci\\_arttext&tlng=es](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S032529572005000400006&script=sci_arttext&tlng=es)>
- **López Perea P., Guzmán Ortiz F. A., Gordillo Martínez A. J., Prieto García F. y Román Gutierrez A. D.** Detección de elementos traza tóxicos en 7 variedades de cebada cultivadas en la región centro de México. Centro de investigaciones químicas. Departamento de química de alimentos. Universidad de México. (2004).
- **Mauss E. A.** Lead poisoning: the continuing epidemic. [En línea] Child and Adolescent Social Work Journal. Vol. 10. no. 5. (1993). Disponible en: <<http://www.springerlink.com/content/q14pww3384032647/fulltext.pdf>>
- **Mohandas Rao K. G., Muddanna Rao S. y Gurumadhva Rao S.** *Centella asiática* (L.) leaf extract treatment during the growth spurt period enhances hippocampal CA3 neuronal dendritic arborisation in rats. [En línea]. Evidence Based Complementary and Alternative Medicine. 3 (3) 349-357. (2006). Disponible en: <<http://ecam.oxfordjournals.org/cgi/reprint/3/3/349>>
- **Morales Segura M. A., Bustamante Delgado S. y Gallardo Torres R.** Aplicaciones clínicas del extracto de la hoja de *Ginkgo Biloba*. [En línea] Revista de Fitoterapia. 1 (2) 95-105. (2000) Disponible en: <<http://farmafitolab.med.uchile.cl/fitofarmacologia/Papers/ginkgo.pdf>>

- **National Toxicology Program.** Lead and lead compounds. [En línea] Report on Carcinogens. Background Documents & Public Comments for the Nominations to the 11th RoC (2004) Disponible en: <<http://ntp.niehs.nih.gov/index.cfm?objectid=03CA0BBE-9561-1E86-6438319191108C7E>>
- **Nordberg G., Jin T., Leffler P., Svensson M., Zhou T., y Nordberg M.** Metallothioneins and diseases with special reference to cadmium poisoning. [En línea]. Analisis. 28. No. 5. (2000). Disponible en: <<http://www.edpsciences.org/articles/analisis/pdf/2000/05/an1959.pdf>>
- **Ramazanov Z.** New wave of health from the sea. [En línea] Nutraceuticals World. Vol. 2 No. 6 38-39 (s. f.) Disponible en: <<http://www.rhodiolarosea.org/sea-vegetables.pdf>>
- **Ramos L.D., Ferrari M. L., Munguía Guerrero L., Tarradellas J., Urrea N. y Botto J. A.** Determinación de plomo y cobre en peces y manejo de sus residuos en el lago de Yojoa, Honduras [En línea] Centro de Estudios y Control de Contaminantes. Monografía 5-94. Contaminantes químicos. (1994) Disponible en: <<http://www.cescco.gov.hn/>>
- **Rubio C., Gutierrez A. J., Martín Izquierdo R.E., Revert C., Lozano G. y Hardisson A.** El plomo como contaminante alimentario [En línea] Asociación Española de Toxicología. Revista de toxicología. 21: 72-80. (2004) Disponible en: <<http://tox.umh.es/aetox/index.htm>>
- **Saper R. B., Kales S. N., Paquin J., Burns M. J., Eisenberg D.M., Davis R. B. and Phillips R. S.** Heavy metal content of ayurvedic herbal medicine products. [En línea] The Journal of the American Medical Association. Vol. 292 No 23. (2004) Disponible en: <<http://jama.ama-assn.org/cgi/content/abstract/292/23/2868>>
- **Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos.** Reseña histórica del cultivo. [En línea] Publicaciones agricultura. Argentina. (s. f.) Disponible en: <<http://www.sagpya.mecon.gov.ar/new/0-0/prensa/publicaciones/maiz/pag9.php>>
- **Shrivastava N., Patel T. y Srivastava A.** Biosynthetic potential of in vitro grown callus cells of *Cassia senna* L. car. senna. [En línea]. Current Science. Vol. 90. No. 11. (2006). Disponible en: <[www.ias.ac.in/currsci/jun102006/1472.pdf](http://www.ias.ac.in/currsci/jun102006/1472.pdf)>
- **Spriewald B. M., Rascu A., Schaller K. H., Angerer J., Kalden J. R. y Harrer T.** Lead induced anaemia due to traditional Indian medicine: a case report. [En línea]. Occupational Environmental Medicine. 56: 282-283. (1999). Disponible en: <<http://oem.bmj.com/cgi/reprint/56/4/282.pdf>>
- **Standard Methods for Examination of Water and Wastewater.** Electrothermal atomic absorption spectrometric method. Metals. Part 3000. 3113 B. pp. 27-32. 21<sup>st</sup> edition. (2005<sub>a</sub>).
- **Standard Methods for Examination of Water and Wastewater.** Quality control. Quality assurance. Introduction. Part 1000. 1020 B. pp. 5-12. 21<sup>st</sup> edition. (2005<sub>b</sub>).
- **Standard Methods for Examination of Water and Wastewater.** Quality assessment. Quality assurance. Introduction. Part 1000. 1020 C. pp. 12. 21<sup>st</sup> edition. (2005<sub>c</sub>).
- **Tomaro M. L., Benavides M. P., Gallego S. M.** Cadmium toxicity in plants. [En línea] Brazilian Journal of Plant Physiology. Vol. 17 No. 1 (2005) Disponible en: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1677-04202005000100003&script=sci\\_arttext&tling=en](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1677-04202005000100003&script=sci_arttext&tling=en)>
- **U.S. Department of Health and Human Services.** Lead Poisoning Associated with Ayurvedic Medications. [En línea] Center for Disease Control and Prevention. Morbidity and Mortality Weekly Report. 53 (26) 582-584 (2004) Disponible en: <<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5326a3.htm>>
- **U.S. Environmental Protection Agency.** Method 3015. Microwave Assisted Acid Digestion of Aqueous Samples and Extracts. [En línea] 3000 Series Methods. SW – 846 Manual. (1994) Disponible en: <[http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/3\\_series.htm](http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/3_series.htm)>
- **U.S. Environmental Protection Agency.** Method 3051. Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments, Sludges, Soils, and Oils. [En línea] 3000 Series Methods. SW – 846 Manual. (1994) Disponible en: <[http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/3\\_series.htm](http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/3_series.htm)>
- **U.S. Environmental Protection Agency.** Cadmium compounds. [En línea] (2000) Disponible en: <<http://www.epa.gov/ttn/atw/hlthef/cadmium.html>>.
- **U.S. Environmental Protection Agency.** Reglamento Nacional Primario de Agua Potable. [En línea] Estableciendo estándares para agua potable segura. (2000) Disponible en: <<http://www.epa.gov/safewater/agua/estableciendo.html>>
- **World Health Organization.** Regulatory situation of herbal medicines: A worldwide review. [En línea] (1998). Disponible en: <[http://whqlibdoc.who.int/hq/1998/WHO\\_TRM\\_98.1.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/1998/WHO_TRM_98.1.pdf)>
- **World Health Organization.** WHO monographs on selected medicinal plants. [En línea] Volume 1. Geneva. (1999). Disponible en: <<http://whqlibdoc.who.int/publications/1999/9241545178.pdf>>
- **World Health Organization.** Pautas generales para las metodologías de investigación y evaluación de la medicina tradicional. [En línea] (2000) Disponible en: <[http://whqlibdoc.who.int/hq/2002/WHO\\_EDM\\_TRM\\_2000.1\\_spa.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/2002/WHO_EDM_TRM_2000.1_spa.pdf)>

- **World Health Organization.** Herbs for health, but how safe are they? [En línea] New features. Bulletin of the World Health Organization. 79 (7). (2001) Disponible en: <[http://www.who.int/bulletin/archives/79\(7\)691.pdf](http://www.who.int/bulletin/archives/79(7)691.pdf)>
- **World Health Organization.** Traditional Medicine. [En línea] Fact sheet N°134. (2003<sub>a</sub>) Disponible en: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/en/>>
- **World Health Organization.** Directrices de la OMS sobre buenas prácticas agrícolas y de recolección (BPAR) de plantas medicinales. [En línea] Ginebra. (2003<sub>b</sub>) Disponible en: <<http://mednet2.who.int/tbs/trm/s5527s.pdf>>
- **World Health Organization.** Guidelines for drinking-water quality. [En línea] Third edition. Vol. 1 (2004) Disponible en <[http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/gdwq3/en/index.html](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3/en/index.html)>
- **World Health Organization.** Quality control methods for medicinal plant materials. [En línea] Revised draft updated. (2005) Disponible en: <[http://www.who.int/medicines/services/expertcommittees/pharm-prep/QAS05\\_131Rev1\\_QCMethods\\_Med\\_PlantMaterialsUpdateSept05.pdf](http://www.who.int/medicines/services/expertcommittees/pharm-prep/QAS05_131Rev1_QCMethods_Med_PlantMaterialsUpdateSept05.pdf)>

