

Técnicas actuales para la determinación de aluminio a niveles de $\mu\text{g/l}$. en líquidos biológicos: comparación y relación costo/efectividad

A. Sanz Medel, R. Rodríguez Roza, A. Noval Vallina, R. González Alonso y J. B. Cannata *

Departamento de Química Analítica. Facultad de Química. Universidad de Oviedo.

* Servicio de Nefrología. Hospital General de Asturias. Universidad de Oviedo.

RESUMEN

Técnicas actuales para la determinación de aluminio a niveles de $\mu\text{g/l}$. en líquidos biológicos: comparación y relación costo/efectividad.

Ningún método analítico reúne todas las ventajas requeridas para una rápida y eficiente determinación de aluminio. Se recomienda la espectrometría de emisión atómica de plasma generado por inducción (ICP-AES) para análisis de rutina, cuando se esperan concentraciones superiores a $30 \mu\text{g/l}$. Si se quieren medir concentraciones por debajo de este nivel se aconseja el uso de la absorción atómica con cámara de grafito.

SUMMARY

Measuring aluminium at levels of $\mu\text{g/l}$ in biological fluids: a comparative analysis of cost and efficiency.

No single analytical procedure has so far emerged as a reference method for the determination of aluminium at extremely low levels. Inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES) can be recommended for routine analysis of any biological fluid with aluminium content above $30 \mu\text{g/l}$. When aluminium concentration is below such level, fast response atomic absorption (AA) with graphite furnace ought to be used.

Correspondencia: Dr. A. Sanz Medel.
Departamento de Química Analítica.
Facultad de Químicas.
Calvo Sotelo, s/n.
Oviedo (España).

Introducción

Los efectos tóxicos secundarios del Al en enfermos de riñón (demencia dialítica, osteomalacia fracturante y anemias microcíticas) constituyen actualmente un problema clínico de extraordinaria importancia y actualidad¹. Por ello se hace evidente la necesidad de disponer de métodos de análisis de ultratrazas de este elemento (los niveles «normales» en suero parecen estar en el orden 2-8 ng/ml.) que hagan posible su determinación a gua, soluciones de diálisis y suero, a fin de controlar y evitar cualquier posible fuente o aporte externo de aluminio a los enfermos dializados. Además, hoy día es preciso estudiar el posible mecanismo de acción y toxicidad del Al, para lo cual es también imprescindible disponer de métodos analíticos capaces de alcanzar la mencionada sensibilidad para la determinación del elemento.

Aunque se han utilizado métodos instrumentales diversos, como la espectrofotometría, la fluorimetría e incluso la activación neutrónica, sin duda las técnicas más adecuadas para resolver el problema comentado (por su sensibilidad y selectividad) son los métodos atómicos: concretamente la absorción atómica (AA) con horno de grafito y la espectrometría de emisión con un plasma de inducción (ICP). Realmente, hasta la fecha todavía no existe un método de fiabilidad internacionalmente aceptado y reconocido².

Sin duda, la técnica más empleada en análisis de rutina es la AA con horno de grafito, pero los problemas derivados de contaminaciones, exactitud, reproducibilidad de esta técnica, etc., han propiciado la investigación en técnicas alternativas de mayor selectividad y conveniencia de uso, siendo una de las más prometedoras la espectrometría de emisión con un plasma ICP. Recientemente nosotros hemos investigado el empleo de esta última metodología en el análisis de Al en líquidos biológicos³, mostrando que sus prestaciones analíticas son inmejorables, siempre que los niveles de aluminio en las muestras se hallen por encima de los 30 ng/ml. ($\mu\text{g/l.}$).

En el presente trabajo llevamos a cabo un estudio comparativo, analítico práctico, de las prestaciones de la AA con horno de grafito frente al ICP para la resolución del problema del análisis y control de ultratrazas de aluminio en aguas, líquidos de diálisis, orina y suero de enfermos de riñón.

Resultados y discusión

Comenzamos exponiendo brevemente la puesta a punto del método para el análisis y control de aluminio por ICP-AES. Inicialmente se seleccionaron las cuatro líneas de emisión más sensibles del Al y que, en principio, podría decirse que están libres de interferencias. Para cada una de estas líneas se optimiza-

ron los parámetros instrumentales más críticos en ICP, es decir, altura de observación en el plasma, presión del Ar nebulizador y potencia de radiofrecuencias (la optimización se efectuó por el método Simplex). La selección de la línea de trabajo se hizo en base al valor del BEC (es decir, la concentración de aluminio a la cual la intensidad de emisión neta es igual a la intensidad de emisión de fondo), que se determinó para cada línea en las condiciones instrumentales óptimas. La línea más sensible (mínimo BEC) resultó ser 396,15 nm.

En la tabla I podemos ver las características analíticas observadas para esta λ seleccionada, en términos de límite de detección, rango de linealidad y precisión, comparadas con las que hemos observado para AA con horno de grafito.

A continuación se pasó a investigar con detalle las posibles interferencias en la determinación de Al en líquidos biológicos por ICP; concretamente se estudiaron las posibles interferencias espectrales y las interferencias físicas (o de nebulización y transporte). De los elementos «electrólito» ensayados la única interferencia importante la constituye el Ca^{+2} y el Na^{+} , que incrementan netamente la emisión de Al a medida que crece su concentración. Respecto a los metales traza se observó un aumento constante de la señal (+ 10 %) para el caso de Fe, Cu, Zn, Sr, Cr, aumento que es independiente del elemento o su concentración.

— La interferencia del Ca^{+2} es de tipo espectral y puede corregirse empleando corrección del «fondo».

— El Na^{+} tiene un efecto sensibilizador que puede explicarse por un cambio de los mecanismos de transferencia de energía al gas plasmógeno. Como este efecto cambia con las variables instrumentales se efectuó una nueva optimización de la determinación utilizando una matriz de Na de 3.400 ppm (análoga al suero); las condiciones óptimas observadas para Al en agua y Al en matriz de NaCl son diferentes: trabajando en las condiciones óptimas de la matriz de Na se mejora la sensibilidad, a la vez que se eliminan virtualmente todas las interferencias.

Para este análisis basta realizar una dilución (1:3) del suero en agua exenta de Al, siendo el límite de cuantificación del Al, referido al suero original, de 150 ng/ml. En todo caso hemos puesto a punto un nuevo método que permite determinar Al en concentraciones próximas y por encima de 30 ng/ml. (con una precisión aproximada de $\pm 10\%$). Se basa en realizar una adición única de Al al suero muestra y utilizar una calibración del ICP con un patrón de Al en matriz de NaCl y un blanco acuoso (en concentración semejante a la de las muestras reales diluidas). Es de resaltar que tales muestras deben estar claras y libres de partículas en suspensión (siendo fundamental una toma de muestra cuidadosa en los hospitales),

TECNICAS ACTUALES PARA LA DETERMINACION DE ALUMINIO A NIVELES DE $\mu\text{G/L}$.
EN LIQUIDOS BIOLÓGICOS: COMPARACION Y RELACION COSTO/EFFECTIVIDAD

Tabla I. Características analíticas comparadas de la determinación de Al en suero por ICP (P-E ICP/5.000) y por AA con horno de grafito (P-E HGA/500)

	ICP	AA/HGA
λ (nm)	396,15	309,27
LD (ng/ml.)	10	1,3
Rango lineal ($\mu\text{g/ml.}$)	0,030-500	0,001-0,080
Sensibilidad (ng/ml.)	—	0,6
Precisión (CV)	4 % (100 ng/ml.)	1 % (80 ng/ml.)

Tabla II. Programa térmico para la determinación de ultratrazas de Al en el horno de grafito

Etap	Temp. ($^{\circ}\text{C}$)	Ramp. (s.)	Hold (s.)	Flujo int. (ml/min.)
1	110* 130**	5	30	300
2	150	15	20	300
3	800	5	20	300
4	1.500	20	15	300
5	2.500	3	3	10
6	2.700	4	4	300

* Patrón acuoso.

** Suero diluido (1:1).

que obturarían el sistema de nebulización, aumentando extraordinariamente la imprecisión y disminuyendo la fiabilidad de los resultados.

En cuanto a la determinación de Al por AA con horno de grafito nosotros seleccionamos la λ de resonancia de 309,27 nm., y, tras la pertinente investigación, el método puesto a punto consiste en realizar una calibración directa con patrones acuosos de Al, refiriendo las lecturas de las muestras de suero, diluido 1:1 con agua ultra pura, o de orina. El volumen de muestra es de 20 μl . y el tipo de tubos de grafito empleados es pirrolítico y con plataformas de λ -vov.

El procedimiento detallado (condiciones del instrumento y programa de temperaturas y tiempos) que recomendamos se da en la tabla II.

En la tabla I se pueden comparar las características analíticas: rango de linealidad, sensibilidad, límite de detección y precisión del método propuesto con las correspondientes al método con el ICP.

En cuanto a la selectividad realizamos un estudio, encontrando que existen ciertos elementos, como el Ca, Mg y el Fe, que elevan la señal si la medida se realiza en la modalidad de altura de pico, y otros, tales como Cl y Zn, que la disminuyen. Sin embargo, si las medidas se hacen en la modalidad de «área de pico» ninguno de estos elementos modifica la señal de Al. Respecto al efecto de la matriz global de suero sobre la señal de Al hemos comprobado (mediante el método de adiciones estándar realizado en distintos días, con diferentes sueros y distintos tubos de grafito) que no existen interferencias apreciables.

Es difícil exagerar sobre el elevado riesgo de contaminación por Al en estos análisis (dados los niveles de concentración en que nos movemos y la extraordinaria abundancia de este elemento en nuestro entorno). Es, pues, altamente recomendable, cuando las muestras llegan al laboratorio, seguir fielmente las normas siguientes (que nos han proporcionado excelentes resultados): I) Lavado de todo el material volumétrico a utilizar con ácido nítrico al 10 %. II) Permanencia de las disoluciones patrón en los matraces de vidrio el mínimo tiempo posible. III) Empleo de materiales de plástico, preferentemente poliestireno cristalino. IV) Utilización de agua ultrapura del Milli-Q, chequeando para comprobar que no se observa señal de aluminio. V) Disponer de un filtro de aire laminar en una «habitación con atmósfera limpia» y ponerlo en funcionamiento como mínimo media hora antes de comenzar el trabajo de análisis. VI) Preparación cuidadosa de las muestras y patrones en el lugar destinado a tal fin dentro de la «habitación con atmósfera limpia». VII) Utilización de un traje especial anticontaminante mientras se esté preparando o analizando muestras dentro de la «habitación con atmósfera limpia». Igualmente resaltamos la importancia de adquirir un espectrómetro de AA de respuesta rápida para la determinación de < 20 ppb de Al.

A estas alturas ya hemos contrastado ampliamente el ICP y AA en el análisis de muestras reales de suero, orina y líquidos de diálisis de enfermos de riñón y de individuos sanos. Ello nos permite generalizar los resultados en las siguientes conclusiones.

Conclusiones

La AA con horno de grafito es una técnica muy adecuada para este tipo de determinaciones por su alta sensibilidad (que permite el control del agua destilada), como ya se había mencionado anteriormente, por la posibilidad de análisis de micromuestras y por la posibilidad de análisis de muestras de suero turbias. No obstante, presenta una grave limitación, que es su lentitud y la necesidad de un mayor rigor operativo. Con ICP se pueden analizar de 15 a 30 muestras por hora, frente a 4-5 muestras por hora en AA, y para análisis de control rutinario de suero en los enfermos de riñón con una concentración de Al \geq 30 ppb, niveles muy frecuentes en este tipo de enfermos, bastaría con la sensibilidad del ICP (más rápido y más fiable a estos niveles de concentración). Su desventaja radica en las limitaciones de sensibilidad (por ejemplo, para control de agua destilada) y, desde luego, en el precio de la instrumentación: «a grosso modo», la espectrometría de emisión con

plasma ICP requiere una inversión de partida dos veces superior a la necesaria en AA con horno de grafito.

Agradecimientos:

La realización de este trabajo ha sido posible gracias a la ayuda de la Dirección de Política Científica, Proyecto CAICYT 2837/83.

Bibliografía

1. Cannata JB, Rodríguez Roza R, García Alonso R y Sanz Medel A: Graphite furnace atomic absorption and ICP atomic emission for the determination of aluminium in biological fluids: a comparative appraisal. *Trace Elem Med* 2:108, 1985.
2. Fell GS: Accuracy of trace element analysis in biological samples. *Trends in Anal Chem (TRAC)* 3:9-10, 1984.
3. Rodríguez Roza R, Sanz Medel A y Cannata JB: Determinación de aluminio en líquidos biológicos de enfermos renales por espectrometría de emisión atómica de plasma generado por inducción (ICP). *Revista Química Analítica*, 1986 (en prensa).