

# **MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE METALES EN FLUIDOS BIOLÓGICOS**

**TRABAJO DE FIN DE GRADO FACULTAD DE FARMACIA**

**CARMEN D. CARRASCO GONZÁLEZ**

Tutor: Guillermo González Hernández  
Curso académico: 2021/2022

## Índice

Resumen.....	3
Abstract.....	3 - 4
Introducción.....	4 - 6
Objetivos.....	7
Metodología.....	7 - 8
Métodos analíticos.....	8 - 12
Ventajas y desventajas.....	12 - 14
Calidad analítica de los métodos.....	14 - 15
Aplicaciones.....	15
Conclusiones.....	16
Bibliografía.....	16 -18

## **Resumen**

El objetivo general de este trabajo es analizar las evidencias sobre los métodos de determinación de metales en fluidos biológicos utilizados en la actualidad. La metodología utilizada fue una revisión bibliográfica sistemática de la literatura. Los métodos que más ampliamente se emplean para determinar elementos metálicos en fluidos biológicos en la actualidad son: ICP-MS (espectrometría de masa con plasma acoplado inductivamente), ICP-AES (espectroscopía de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente) o ICP-OES (espectrometría de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente), AES (espectrometría de emisión atómica) y AAS (espectrometría de absorción atómica). Las técnicas IPC-MS, IPC-AES o IPC-OES son de amplio rango analítico, requieren poca cantidad de muestra, su preparación es simple y su rendimiento es elevado. Sin embargo, IPC-MS tiene una capacidad de detección superior a ICP-AES. Las técnicas AES y AAS no son útiles para muestras de especímenes pequeños dados los límites tan bajos de detección de estas técnicas, por ello, se consideran más útiles en el análisis de especímenes relativamente grandes. Esto indica que, dependiendo del tipo de muestra y su concentración se pueden utilizar diferentes métodos.

**Palabras clave:** Parámetros clínicos, calidad analítica, ICP-MS, ICP-AES, ICP-OES, AAS, AES.

## **Abstract**

The general objective of this work was to analyze the evidence on the methods for determining clinical parameters currently used. The methodology used was a systematic bibliographic review of the literature. Among the results, it was observed that the methods that are most widely used in the literature to determine clinical parameters at present are: ICP-MS ( Inductively coupled plasma mass spectrometry), ICP-AES ( Inductively coupled plasma atomic emission spectrometry), ICP-OES (Inductively coupled plasma with optical emission spectroscopy), AES ( Atomic emission spectroscopy), and AAS (Atomic absorption spectroscopy ). IPC-MS, IPC-AES, or IPC-OES techniques have a wide analytical range, low sample volume, simple sample preparation, and high sample throughput. However, IPC-MS has a higher detection capacity than ICP-AES with the same sample throughput. While AES and AAS techniques are not useful for small specimen samples given the very low detection limits of these techniques, they are therefore considered more useful in the analysis of

relatively large specimens. The conclusions indicate that, regarding the analytical quality of all these methods, it is considered that depending on the type of sample and its concentration, different methods can be used.

**Keywords:** Clinical parameters, analytical quality, ICP-MS, ICP-AES, ICP-OES, AAS, AES.

## **1. Introducción**

En este trabajo se pretende analizar los métodos de determinación de metales en fluidos biológicos, enfocándose en los principios y usos de dichos métodos, la evaluación y la calidad analítica de los mismos. Los elementos están presentes en diferentes formas en la naturaleza y son esenciales para que el organismo realice diferentes funciones. Entre ellos se encuentran los oligoelementos, importantes para las funciones celulares a nivel biológico, químico y molecular. Estos intervienen en reacciones bioquímicas vitales actuando como cofactores para muchas enzimas, además de actuar como centros para estabilizar estructuras de enzimas y proteínas (Patton, 2021).

Algunos oligoelementos controlan procesos biológicos importantes uniéndose a moléculas en el sitio receptor de la membrana celular o alterando la estructura de la membrana para evitar la entrada de moléculas específicas en la célula. Las funciones de los oligoelementos tienen un doble papel. A nivel fisiológico, son importantes para la estabilización de estructuras celulares, pero en estados de deficiencia pueden estimular vías alternas y causar enfermedades, de ahí su relevancia clínica (Prashanth et al., 2015).

Estos elementos presentes en el organismo se clasifican en macroelementos, microelementos o trazas (Tabla 1).

**Tabla 1. Macroelementos y microelementos o trazas**

<b>Macroelementos</b>	
Cationes principales	Aniones principales
Calcio (Ca)	Fósforo (P)
Magnesio (Mg)	Cloro (Cl)
Sodio (Na)	Azufre (S)
Potasio(K)	
<b>Microelementos o trazas</b>	
Trazas	Microelementos
Hierro (Fe)	Flúor (F)
Zinc (Zn)	Vanadio (V)
Manganeso (Mn)	Cromo (Cr)
Cobre (Cu)	Molibdeno (Mo)
Yodo (I)	Selenio (Se)
Cobalto (Co)	Estaño (Su)
Níquel (Ni)	Silicio (Si) y Arsénico (As)

*Tomado de: Frieden (1972) y Díaz Zamora (2017)*

Una tendencia creciente en el campo del análisis de elementos metálicos gira en torno a la especiación de ciertos metales, como el cromo y el arsénico. El concepto de especiación de metales se refiere a la determinación de la(s) forma(s) de un elemento en la muestra. Esto podría limitarse a la especiación por valencia de una forma inorgánica (por ejemplo cromo hexavalente, cromo trivalente o cromo total) o podría incluir la especiación por valencia y/o forma(s) combinada(s), (por ejemplo mercurio elemental, ión mercúrico o ión metilmercurio). Desde un punto de vista clínico, tiene muchas ventajas conocer las especies específicas presentes en las muestras del paciente. Por ejemplo, la presencia de cromo III o cromo trivalente en el organismo no causa efectos

nocivos, sin embargo, el cromo VI o cromo hexavalente es muy tóxico ya que puede causar mutaciones y cáncer. Otra ventaja para el personal clínico es poder utilizar el análisis de especiación desde un punto de vista preventivo. Al identificar la especie exacta, el médico puede limitar mejor la búsqueda de posibles sitios de exposición, lo que ayuda al paciente a evitar ciertas zonas en el futuro (Warra y Jimoh,2011).

En este campo del análisis clínico se han utilizado diferentes métodos para la determinación de estos elementos utilizados como parámetros clínicos, entre los que se encuentran la espectrometría de masas (MS), la espectroscopía de emisión atómica (AES) y la espectroscopía de absorción atómica (AAS). Las nuevas técnicas que se han propuesto son la espectrometría de masas de plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) y la espectroscopía de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente (ICP-AES) o espectrometría de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES), consideradas las técnicas más recientes y que serán también analizadas en este trabajo.

La hipótesis de estudio plantea que los métodos químicos analíticos usados para la determinación de metales en fluidos biológicos, tienen una evaluación determinada y calidad analítica diferente entre ellos.

## **2. Objetivos**

El objetivo general de este trabajo es estudiar mediante revisión bibliográfica los métodos y técnicas de determinación de metales en fluidos biológicos utilizados en la actualidad.

Los objetivos específicos incluyen:

- a) Describir los métodos desde sus principios teóricos y usos.
- b) Describir las ventajas y desventajas.
- c) Exponer sus aplicaciones

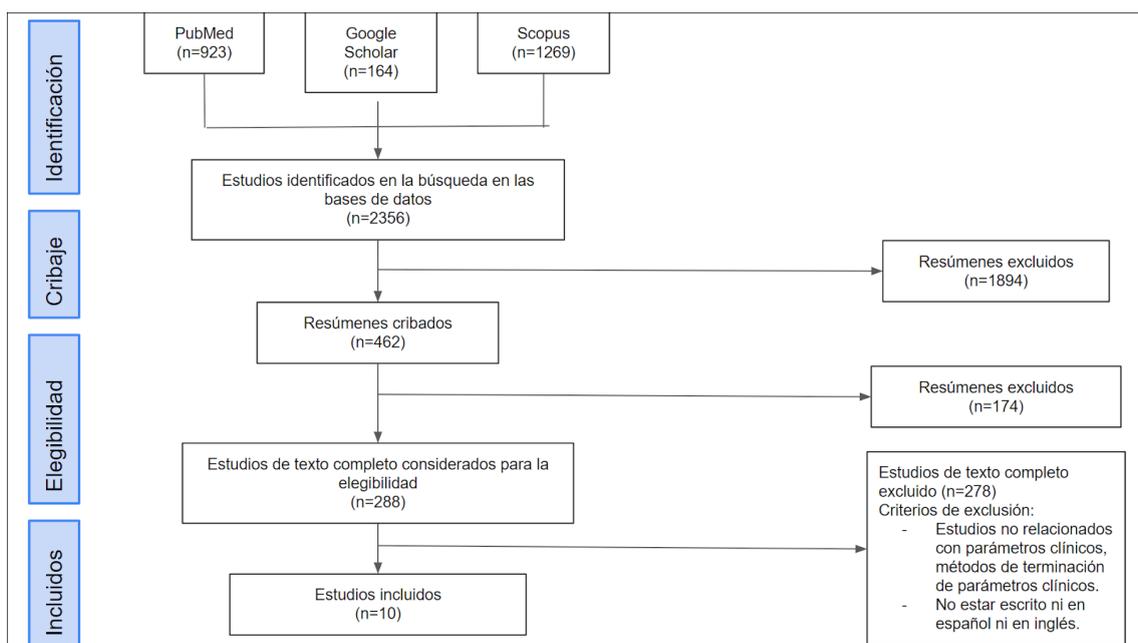
## **3. Metodología**

Para llevar a cabo este trabajo bibliográfico, se utilizó una cadena de búsqueda en la base de datos de Google Scholar, PubMed y Scopus para recopilar las publicaciones de interés. La búsqueda se realizó durante noviembre y diciembre de 2021, utilizando las siguientes palabras claves:

“Clinical parameters”AND Methods OR “Evaluation” OR Analytical quality

Como criterios de inclusión consideramos aquellos estudios cuyo tema principal sean parámetros clínicos, métodos de determinación de parámetros clínicos y su evaluación. Por último, se eligieron los estudios publicados en inglés y español de los últimos diez años.

Con las cadenas de búsqueda se encontraron 2.356 resultados, de los cuales se seleccionaron 10 relevantes para esta investigación bibliográfica ,después de aplicar los criterios de inclusión y exclusión que se muestran en la figura 1.



**Figura 1. Diagrama de flujo.**

#### 4. Métodos analíticos

Como resultado de la búsqueda bibliográfica se encontró que los métodos utilizados más ampliamente para la determinación de metales en fluidos biológicos en la

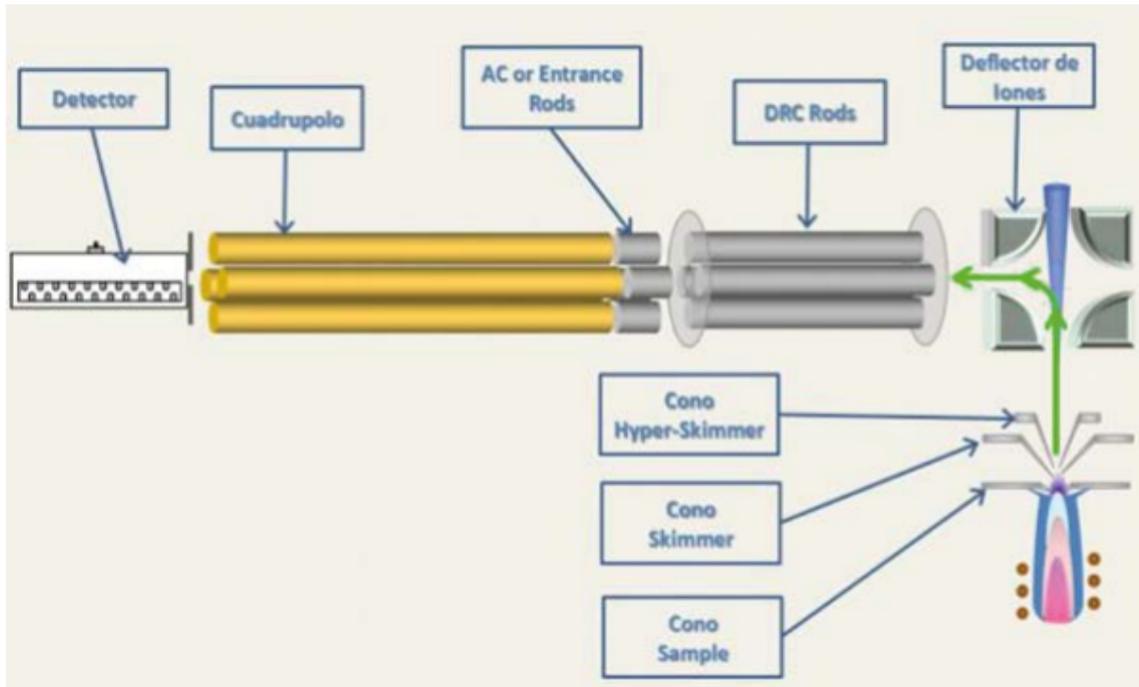
actualidad son: ICP-MS, ICP-AES ó ICP-OES, AES y AAS. A continuación analizaremos cada uno de ellos en cuanto a sus principios teóricos y usos.

#### 4.1 ICP-MS

La espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente o ICP-MS, es una variante de las técnicas de análisis por espectrometría de masas. Esta técnica también conocida como espectrometría de masas con fuente de plasma, tiene alta sensibilidad y es rápida en el análisis multielemental, lo que permite cuantificar concentraciones de 6 órdenes de magnitud, es decir, desde PPM a cantidades mayores de PPT, permitiendo analizar más elementos en una única muestra y en menor tiempo. Se usa para analizar muestras clínicas, alimentos y aguas, entre otras (Díaz Zamora, 2017; Mittal et al. 2017).

Su funcionamiento consiste en la introducción de muestras, generación de iones, interfaz de acondicionamiento, discriminador de iones y detector. La mayoría de muestras analizadas por ICP-MS son líquidas, pero también se puede analizar muestras sólidas y muestras gaseosas. El sistema más común de introducción de muestras en un ICP-MS es el de un nebulizador con una cámara de rocío. El nebulizador convierte la muestra líquida en un fino aerosol, que es dirigido hacia el plasma de argón. El plasma ioniza los elementos, que pasan a través de la interfaz y de los lentes iónicos. Después de ser enfocados por los lentes iónicos, son separados de acuerdo a su relación masa a carga por el espectrómetro de masas y posteriormente por el detector. A continuación el sistema informático convierte la intensidad de señal medida en concentraciones para cada elemento generando un informe de los resultados (Díaz Zamora, 2017; Mohammad et al., 2020).

En la Figura 2 se muestra el esquema del método.



**Figura 2. Esquema de ICP-MS** Sistema de introducción de muestra: consiste de una Bomba peristáltica, nebulizador y cámara de rocío.

Sistema de antorcha ICP: genera el plasma el cuál sirve de fuente de iones ICP al alto vacío que se encuentra en el espectrómetro de masa.

Interfase: acomoda la presión atmosférica a la que se encuentra la fuente de iones ICP al alto vacío en que se encuentra el espectrómetro de masa.

Sistema de vacío: proporciona el vacío para el cual el cuadrupolo y el detector.

Lentes iónicas: enfocan a los iones dentro de un haz para su transmisión dentro del cuadrupolo.

Cuadrupolo: actúa como un filtro de masa para poder ordenar los iones por su relación masa a carga ( $m/z$ ).

Sistema de control y manejo de datos: controla todos los parámetros del equipo y el manejo de datos hasta la obtención de los resultados de la concentración final (Díaz Zamora, 2017; Mohammad et al, 2020).

A continuación en la figura 3 se muestra en color los elementos que pueden ser analizados por ICP-MS con límites de detección en un rango de PPT o fracciones de PPM. Los elementos en blanco no pueden ser medidos por ICP-MS o no tienen isótopos de ocurrencia natural (Díaz Zamora, 2017; Litter et al, 2020).



**Figura 3. Elementos que pueden ser analizados por ICP-MS.** Las líneas mostradas para cada elemento en la Figura 3 indican el número y la abundancia relativa del isótopo natural para cada uno o la huella digital isotópica del elemento (Díaz Zamora, 2017; Litter et al., 2009).

#### 4.2 ICP-AES ó ICP-OES

La espectroscopía de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente (ICP-AES) o la espectrometría de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) son técnicas espectrofotométricas de emisión que se basan en la propiedad que tienen los electrones excitados de emitir energía a una longitud de onda dada, cuando regresan al estado fundamental, después de la excitación por plasma a alta temperatura. La característica fundamental de este proceso es que cada elemento emite energía a longitudes de onda específicas propias de su carácter atómico. La transferencia de energía de los electrones cuando vuelven al estado fundamental es única para cada elemento. En la técnica ICP-OES, las emisiones de los átomos excitados se recogen mediante un sistema óptico basado en un policromador que separa la radiación según su longitud de onda. Las longitudes de onda utilizadas van desde la parte superior del ultravioleta de vacío (160 nm) hasta el límite de la luz visible (800 nm) (Warrah y Jimoh, 2011).

### **4.3 AES y AAS**

La espectroscopía de emisión atómica (AES) y la espectroscopía de absorción atómica (AAS), son técnicas más antiguas y se utilizan normalmente para cuantificar los elementos metálicos presentes en una muestra. La muestra se disuelve en un disolvente adecuado, si no es soluble se aplica un tratamiento químico previo. Los espectrómetros de absorción atómica utilizan lámparas específicas para la medición de un solo elemento metálico, o lámparas de elementos múltiples que son específicas para una pequeña cantidad de elementos metálicos. Aunque en muchos aspectos ambas técnicas son similares, en la AES se mide la emisión de los átomos metálicos gaseosos calentados (Lim, 2013).

### **5. Ventajas y desventajas**

En la Tabla 2 se muestran las ventajas y desventajas de los métodos de determinación de metales en fluidos biológicos. Es importante considerar una amplia gama de factores al evaluar la idoneidad de una técnica para una aplicación clínica particular.

**Tabla 2. Ventajas y desventajas de los métodos de determinación de parámetros clínicos.**

Método	Ventajas	Desventajas
ICP-MS	<p>Técnica de elementos múltiples.</p> <p>Amplio rango analítico.</p> <p>Límite de detección bajo.</p> <p>Alto rendimiento de la muestra</p> <p>Bajo volumen de la muestra.</p> <p>Preparación simple de la muestra.</p> <p>Los instrumentos de espectrometría de masas en tándem y de alta resolución (triple cuadrupolo) ofrecen un nivel muy alto de control de interferencias.</p> <p>Alta precisión.</p> <p>Analiza el mayor número de elementos e isótopos de la tabla periódica, de forma simultánea en menor tiempo (máximo cinco minutos), lo cual representa un aporte importante para el ámbito de acción.</p> <p>La capacidad de manejar matrices simples y complejas con un mínimo de interferencias de matriz debido a la alta temperatura de la fuente ICP.</p> <p>Capacidad de detección superior a ICP-AES con el mismo rendimiento de muestras.</p> <p>La capacidad de obtener información isotópica.</p>	<p>Coste del equipo.</p> <p>Coste operativo (argón).</p> <p>Se requieren múltiples gases de alta pureza.</p> <p>Alto nivel de experiencia del personal.</p> <p>Es necesario controlar las interferencias.</p> <p>Costes de instalación del laboratorio (aire acondicionado, filtros HEPA, tuberías, medidas de reducción de polvo).</p>
ICP-AES y ICP-OES	<p>Técnica de elementos múltiples.</p> <p>Amplio rango analítico.</p> <p>Alto rendimiento de la muestra.</p> <p>Bajo volumen de muestra.</p> <p>Preparación simple de la muestra.</p>	<p>Límite de detección alto.</p> <p>Coste del equipo.</p> <p>Alto nivel de experiencia del personal.</p> <p>Costes de instalación del laboratorio.</p>

AES	Coste del equipo.	Técnica de elemento único.
	Bajo nivel de experiencia del personal.	Rango analítico limitado.
	Preparación simple de muestras.	Límite de detección alto.
	Bajo coste de instalación de laboratorio.	Mayor volumen de muestra.
	Límites insuperables de detección, exactitud y precisión para el análisis elemental.	Gases inflamables.
AAS	Coste del equipo.	Técnica de elemento único.
	Bajo nivel de experiencia del personal.	Rango analítico limitado.
	Preparación de muestras sencilla.	Límite de detección alto.
	Coste de instalación de laboratorio bajo.	Mayor volumen de muestra.
	Rendimiento de muestras razonablemente alto.	Gases inflamables.
	Pocas interferencias.	
	Límites de detección, exactitud y precisión para el análisis elemental.	

Tomado de Díaz Zamora (2017); Lim (2013); Mohammad et al. (2020); Warra y Jimoh (2011); Wilschefski y Baxter (2019).

ICP-MS: Espectrometría de Masas de Plasma Acoplado Inductivamente (*Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*). ICP-AES: Espectroscopia de Emisión Atómica de Plasma Acoplado Inductivamente (*Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy*). ICP-OES: Espectrometría de Emisión Óptica de Plasma Acoplado Inductivamente (*Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*). AAS: Espectroscopía de absorción atómica. AES: Espectroscopia de emisión atómica. GFAAS: Espectroscopía de Absorción Atómica en Horno de Grafito. Filtro HEPA: Filtro de aire de partículas de alta eficiencia.

## 6. Calidad analítica de los métodos

Es rutinaria la incorporación de una serie estándar de calibración que abarque los elementos a analizar. Esto está diseñado para cubrir un rango de concentraciones que abarcará completamente la concentración de analito en la muestra. En caso de que se encuentre que la muestra cae significativamente fuera del rango, se puede diluir y volver a analizar para que se encuentre dentro del rango deseado (Khan et al., 2013; Warra y Jimoh, 2011).

Se pueden incorporar estándares internos para cada muestra en concentraciones conocidas para los elementos deseados para compensar cualquier variación en la intensidad de la señal por causa de la matriz (Warra y Jimoh, 2011).

## **7. Aplicaciones**

La elección de una técnica u otra dependerá del tipo de muestra y del parámetro o parámetros que se pretenden analizar. Son técnicas aplicables en todos los campos, entre los que se encuentran el medioambiental, el farmacéutico y el alimenticio, entre otros.

La técnica de ICP-MS aparece en numerosos estudios donde ha sido aplicada, por ejemplo para la determinación y especiación de elementos traza y ultratrazas en fluidos biológicos, para la detección de trazas de impurezas en productos farmacéuticos terminados, así como para la determinación de las proporciones de isótopos de plomo y talio como índices biológicos de exposición a metales (Warra y Jimoh,2011).

En el caso de la técnica ICP-AES, aparecen estudios sobre la determinación de elementos metálicos en aguas residuales industriales (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, y Zn) y estudios sobre los efectos tóxicos de la ingesta de mercurio presente en pescado (Warra y Jimoh,2011).

La técnica de ICP-OES, se emplea para el análisis de suelos, aguas de consumo, alimentos, bebidas, la cual permite la determinación simultánea y con gran precisión y exactitud de grandes grupos de elementos como Ag, Al, As, B, Ba, Be, Bi, Ca, Cl, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, S, Sb, Se, Si, Ti, V, W, Zn, Zr, en concentraciones de trazas o ultratazas.

En cuánto a las técnicas AES y AAS, se debe tener en cuenta que son métodos que dan una medida de la cantidad total de un metal específico que está presente, pero no hay información sobre la especiación original de ese elemento metálico (Lim, 2013). Una importante aplicación es el análisis de muestras de polvo de estupefacientes, los bajos límites de detección que se pueden lograr permiten detectar muchos elementos traza, por ejemplo, en la heroína (Lim, 2013).

## 8. Conclusiones

1. El análisis de plasma acoplado inductivamente, o ICP, es un método que permite identificar cantidades traza y concentraciones superiores de casi todos los elementos dentro de una muestra.
2. Se considera que son técnicas de análisis químico eficaces y la elección del mejor método dependerá del tipo de muestra y los objetivos finales del análisis.
3. Las técnicas ICP-MS, ICP-AES o ICP-OES son técnicas de amplio rango analítico y alto rendimiento de muestra, sin embargo ICP-MS tiene una capacidad de detección superior a ICP-AES.
4. Estas técnicas presentan numerosas aplicaciones clínicas, medioambientales, de control de calidad, en la industria farmacéutica y en la alimentaria, entre otras.
5. Las técnicas AES y AAS se utilizan para la determinación cualitativa y cuantitativa de elementos químicos, principalmente metales y semimetales, y no son útiles para muestras de especímenes pequeños, por ejemplo líquido cefalorraquídeo de un feto.

## 9. Bibliografía

- Bianga, J., Perez, M., Mouvet, D., Cajot, C., De Raeve, P., y Delobel, A. (2020). Development of an ICP-MS/MS approach for absolute quantification and determination of phosphodiester to phosphorothioate ratio in therapeutic oligonucleotides. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 184, 113179.
- Bowen, H. J. (1966). *Trace Elements in Biochemistry*. 2nd ed. London: Academic Press. p. 55-7.
- Díaz Zamora, R. (2017). Ventajas y desventajas del análisis por ICP-MS de metales pesados en muestras biológicas. *Boletín Instituto Nacional Salud*, 23(7-8), 54-9.
- Frieden, E. (1972). The chemical elements of life. *Scientific American*, 227, 52-60.
- Jarzyńska, G., y Falandysz, J. (2011). The determination of mercury in mushrooms by CV-AAS and ICP-AES techniques. *Journal of Environmental Science and Health Part A*, 46(6), 569-573.

- Khan, N., Jeong, I. S., Hwang, I. M., Kim, J. S., Choi, S. H., Nho, E. Y., ... y Kim, K. S. (2013). Method validation for simultaneous determination of chromium, molybdenum and selenium in infant formulas by ICP-OES and ICP-MS. *Food chemistry*, 141(4), 3566-3570.
- Lim, K. F. (2013). *Spectroscopic Techniques*. Encyclopedia of Forensic Sciences, Second Edition, Methods, Spectroscopic Techniques. pp. 627-634.
- Litter, M. I., Armienta, M. A., y Farias. S. S. (2009). *Iberoarsen: Metodologías analíticas para la determinación y especiación de arsénico en aguas y suelos*. Argentina: CYTED.
- Mittal, M., Kumar, K., Anghore, D., y Rawal, R. K. (2017). ICP-MS: Analytical Method for Identification and Detection of Elemental Impurities. *Current drug discovery technologies*, 14(2), 106–120.
- Mohammad, A., Agarabi, C., Rogstad, S., DiCioccio, E., Brorson, K., Ashraf, M., Faustino, P. J., y Madhavarao, C. N. (2019). An ICP-MS platform for metal content assessment of cell culture media and evaluation of spikes in metal concentration on the quality of an IgG3:κ monoclonal antibody during production. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 162, 91-100.
- Patton, K. T. (2021). *Estructura y función del cuerpo humano*. Elsevier.
- Pluháček, T., Ručka, M., y Maier, V. (2019). A direct LA-ICP-MS screening of elemental impurities in pharmaceutical products in compliance with USP and ICH-Q3D. *Analytica chimica acta*, 1078, 1-7.
- Prashanth, L., Kattapagari, K. K., Chitturi, R. T., Baddam, V. R. R., y Prasad, L. K. (2015). A review on role of essential trace elements in health and disease. *Journal of dr. ntr university of health sciences*, 4(2), 75-85.
- Vasudevan, D. M., Sreekumari, S. (2007). *Text Book of Biochemistry for Medical Students*. 5th ed. New Delhi: Jaypee Publication. p. 76-91.
- Warra, A. A., y Jimoh, W. L. O. (2011). Overview of an inductively coupled plasma (icp) system. *International Journal of Chemical Research*, 3(2), 41-48.
- Wilschefski, S. C., y Baxter, M. R. (2019). Inductively coupled plasma mass spectrometry: introduction to analytical aspects. *The Clinical Biochemist Reviews*, 40(3), 115.