

Scataglini, Molys¹; Ostera, Delia²; Hernández, Malén¹

¹Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR. ² IBC Laboratorios, Instituto de Bioquímica Clínica de Rosario.

PRESENTACIÓN

Durante mis prácticas en el laboratorio IBC, tuve la oportunidad de pasar por el área de Absorción Atómica, donde adquirí una valiosa e interesante experiencia con tres técnicas fundamentales: espectrofotometría de absorción atómica (EAA) con horno de grafito, con llama y con generador de hidruros. Trabajamos con muestras de aguas, cervezas, levaduras, orina, suero y sangre entera, realizando determinaciones de zinc, aluminio, cobre, sodio, mercurio, níquel, plomo, antimonio, cromo, manganeso, arsénico y selenio.

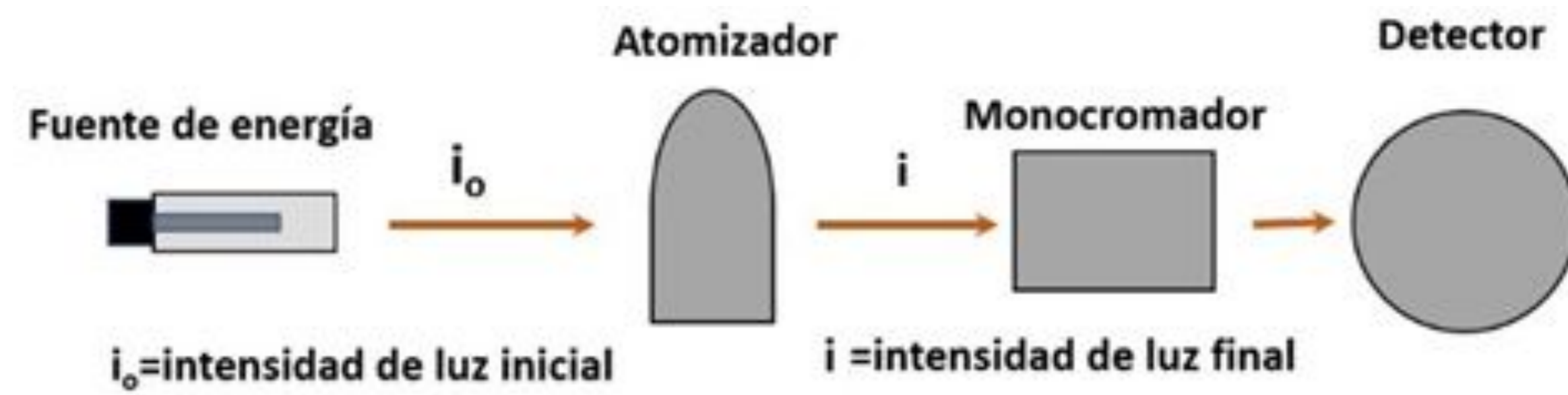
MARCO TEÓRICO

La EAA es una técnica analítica utilizada para determinar la concentración de elementos metálicos en una muestra. Para realizar las mediciones, el analito debe ser transformado en átomos gaseosos. Estos átomos absorben la radiación electromagnética a una longitud de onda que es específica para cada elemento, produciendo una señal medible. La cantidad de energía absorbida es proporcional a la concentración del elemento en la muestra, de acuerdo a la ley de Lambert-Beer.

Componentes básicos de un espectrómetro de absorción atómica:

Técnicas:

Las distintas formas de atomización dan lugar a las diversas técnicas.



EAA con horno de grafito

Atomización electrotérmica. La muestra es dispensada en el interior del horno de grafito, éste se calienta a altas temperaturas, lo que vaporiza y atomiza la muestra. El tubo de grafito está alineado con la luz de la lámpara de cátodo hueco. Así, los átomos generados absorberán la luz proveniente de la lámpara del elemento a determinar.

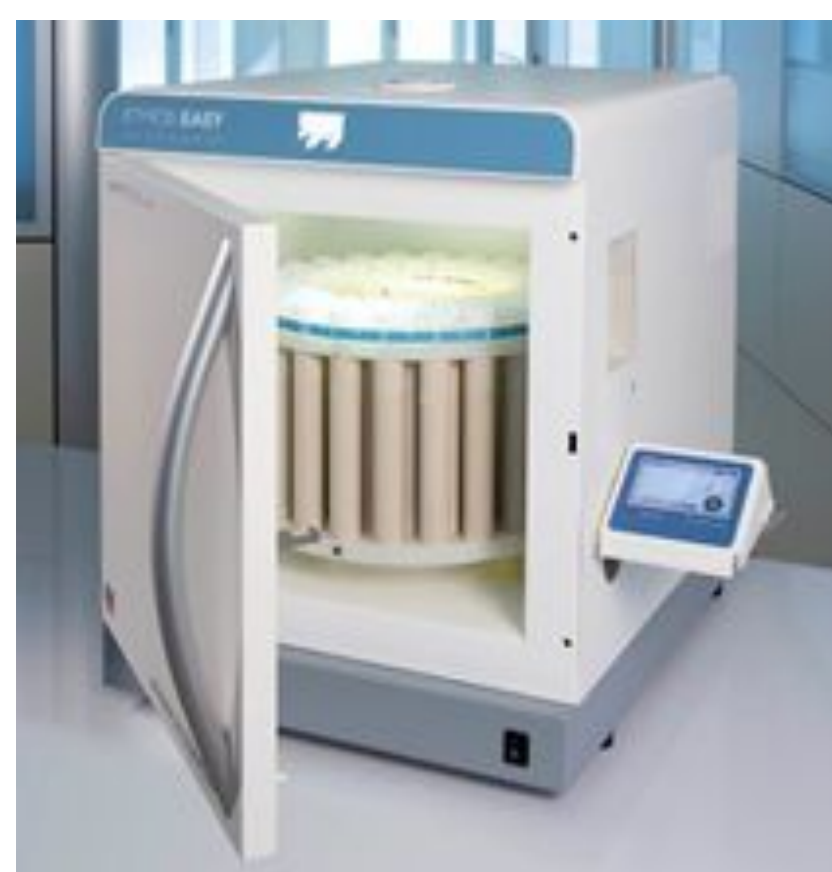
EAA con llama

La muestra es aspirada a través de un nebulizador que genera un aerosol, éste se mezcla con los gases combustibles y oxidantes, siendo transportado al cabezal del quemador. Una vez en la llama, se produce la atomización de la muestra. El número de átomos del metal formados determinará la cantidad de luz absorbida.

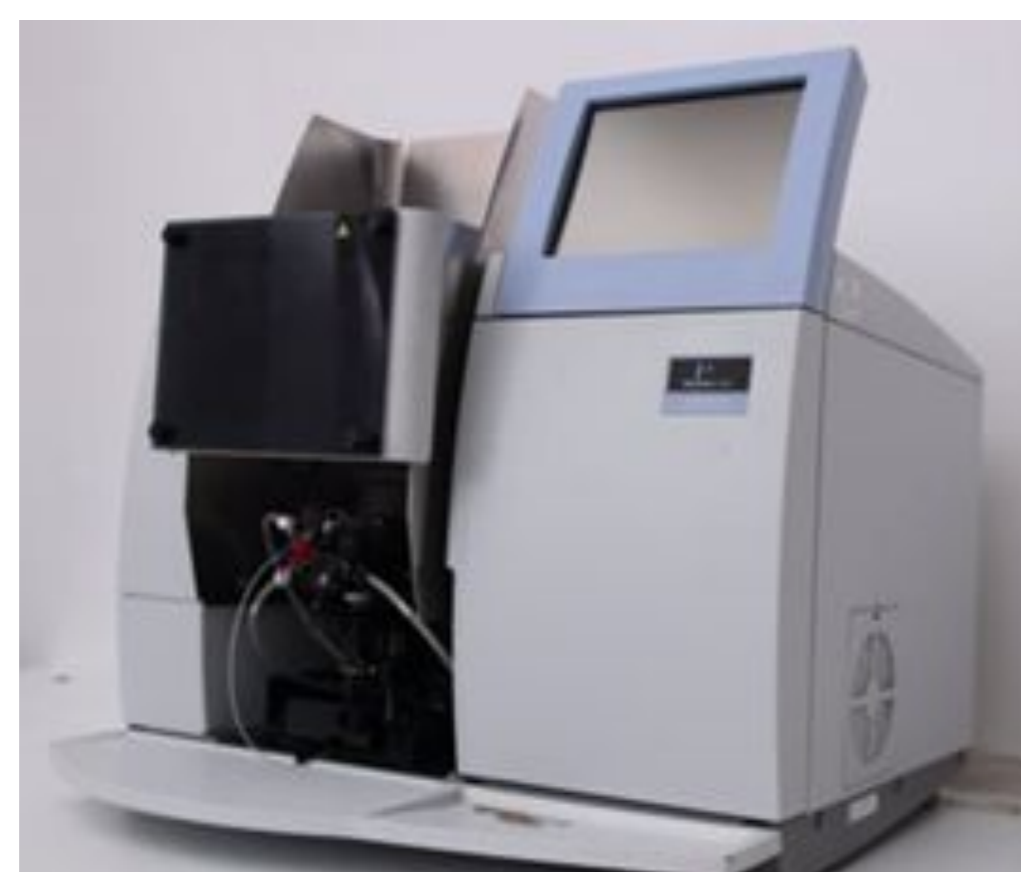
EAA con generador de hidruros

Se basa en la reacción del analito en una solución ácida, con el borohidruro de sodio para formar hidruros gaseosos del elemento en estudio. Una vez formado, se transporta por una corriente de argón hacia una celda de cuarzo, alineada en el paso óptico.

RESULTADOS



Digestor MILESTONE ETHOS UP.

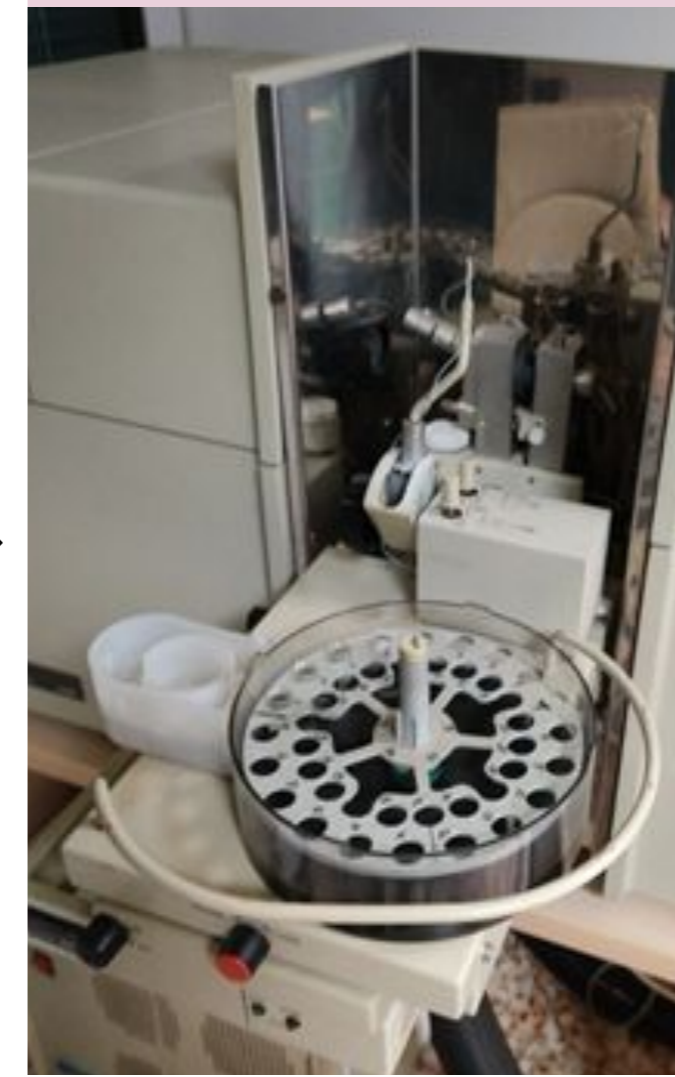


Espectrofotómetro Perkin Elmer AANALYST 200



Espectrofotómetro Perkin Elmer 3100

EAA con horno de grafito - Determinación de Se



- Muestra: suero.
- Indicaciones: ayuno de 8hs. Indicar medicación.
- Pretratamiento de muestra: dilución.

1-Preparamos la solución estándar y obtenemos la curva de calibración.
2-Colocamos las muestras en las cubetas, el equipo pipetea 20ul, lo deposita dentro del horno y comienza el ciclo de calentamiento que lleva a cabo la atomización. Se mide la absorción por parte de los átomos de Se, se compara con la curva y se obtiene la concentración de Se en la muestra.

Valores de referencia: Adultos: 4,00 – 15,00 ug/dl
Niños: 7,00 – 15,00 ug/dl
Sensibilidad analítica: 0,05 ug/dl

EAA con llama - Determinación de Cu



- Muestra: suero, orina, cerveza.
- Indicaciones:
-Cu en suero: ayuno de 8hs. Indicar medicación.
-Cu urinario: orina de 24hs u orina espontánea.
-Cu en materiales varios: 200 ml o gr de muestra.
- Pretratamiento de muestra: dilución del suero, y en cervezas eliminamos todo el gas.

1-Preparamos la solución estándar y obtenemos la curva de calibración.
2-Comenzamos a pasar las muestras por el equipo colocando la manguera dentro del tubo para aspirar. Llega a la llama donde se produce la atomización, el equipo lee absorbancia y hace el cálculo de concentración.

Valores de referencia: -Cu urinario: hasta 80 ug/24hs o hasta 50 ug/g de Creatinina.
-Cu en suero: Adultos: 75 – 145 ug/dl - Niños: 80 – 180 ug/dl.
Sensibilidad analítica: 5 ug/dl

EAA con generador de hidruros - Determinación de Hg



- Muestra: suero.
- Indicaciones: ayuno de 8hs. Indicar medicación y posible riesgo de exposición.
- Pretratamiento de muestra: digestión para eliminar materia orgánica y evitar formación de espuma.

1-Preparamos la solución estándar y obtenemos la curva de calibración.
2-Colocamos la muestra y HCl en el recipiente de reacción. Enroscamos el recipiente en el equipo y dispensamos el NaBH₄. El Hg presente se convierte en HgH y es arrastrado por una corriente de Ar hacia la celda de cuarzo, donde se produce la absorción y se cuantifica la concentración de Hg.

Valores de referencia: hasta 1,00 ug/dl.
Sensibilidad analítica: 0,01 ug/dl.

CONCLUSIONES

La EAA permite valorar el nivel de elementos metálicos en una amplia gama de matrices, como alimentos, suelos, aguas, bebidas comerciales, muestras biológicas. Con respecto al análisis de muestras biológicas, esta técnica es importante para:

- Diagnóstico y seguimiento de enfermedades, como la enfermedad de Wilson, ya que permite monitorear los niveles de Cu en el organismo.
- Determinar deficiencias o excesos de minerales en el organismo, por ejemplo de cofactores importantes como lo son el Zn y el Se.
- Evaluar la exposición a determinados tóxicos, como al Hg o Pb.

	VENTAJAS	DESVENTAJAS
EAA	<ul style="list-style-type: none"> • Alta sensibilidad y selectividad • Puede analizar más de 60 elementos de forma directa. • Preparación de la muestra simple • Pocas interferencias • Manejo sencillo 	<ul style="list-style-type: none"> • Solo puede analizar elementos de uno en uno • Construir curva de calibración por cada determinación a realizar en el día. • Solo puede analizar muestras en disolución. • Equipos y componentes costosos. • Requiere gases específicos como acetileno.
EAA con horno de grafito	<ul style="list-style-type: none"> • Mayor sensibilidad que EAA con llama • Poca cantidad de muestra (µL) 	<ul style="list-style-type: none"> • Lento por los ciclos de calentamiento-enfriamiento.
EAA con llama	<ul style="list-style-type: none"> • Rápido y sencillo 	<ul style="list-style-type: none"> • Mayor cantidad de muestra (mL)
EAA con generador de hidruros	<ul style="list-style-type: none"> • El más sensible de los tres 	<ul style="list-style-type: none"> • Formación de espumas • Más complejo, involucra reacciones en línea • Aplicación a un número limitado de analitos