

DETERMINACION DE PLOMO EN SANGRE HUMANA
POR REFLEXION TOTAL DE RAYOS X

DETERMINACION DE PLOMO EN SANGRE HUMANA

POR REFLEXION TOTAL DE RAYOS X

EDUARDO MARTIN ALVAREZ BASSIS

Trabajo de desarrollo del presentador para optar

al título académico de Licenciado en Física

Quilmes

1973

Te
UV4
Fis
a 40m
1989
c. 2

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ciencias y Humanidades

DETERMINACION DE PLOMO EN SANGRE HUMANA
POR REFLEXION TOTAL DE RAYOS X
DETERMINACION DE PLOMO EN SANGRE HUMANA
POR REFLEXION TOTAL DE RAYOS X

EDUARDO MARTIN ALVAREZ MASSIS

EDUARDO MARTIN ALVAREZ MASSIS

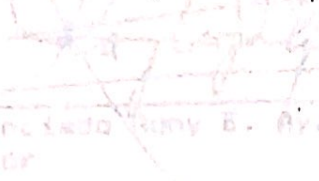
Trabajo de investigación presentado para optar
al grado académico de Licenciado en Física

Guatemala
1989
Guatemala
1989

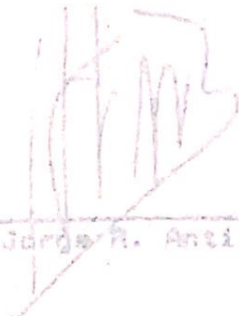
UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades

Vp. 62

(1) 
Licenciado Jimmy B. Ayala J.
Asesor


Presentado:

(1) 
Doctor Jorge R. Antillon Ratta

DETERMINACION DE PLOMO EN SANGRE HUMANA

POR REFLEXION TOTAL DE RAYOS X

Licenciado Edgardo Alvarez.

EDUARDO MARTIN ALVAREZ MASSIS 

Licenciado Victor M. Ceballos

Fecha de aprobación: 13 de noviembre de 1988
Guatemala

1989

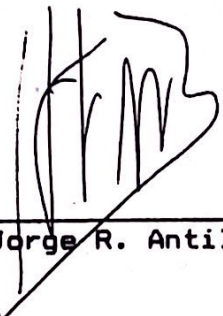
Vo. Bo. :

(f)

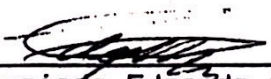

Licenciado Rony E. Ayala J.
Asesor

Tribunal:

(f)

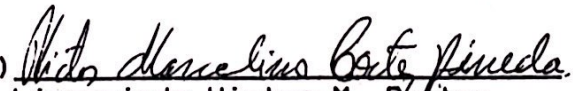

Doctor Jorge R. Antillón Matta

(f)


Licenciado Edgardo Alvarez

Decretado:

(f)


Licenciado Victor M. Cortez

Fecha de aprobación: 13 de noviembre de 1990

Dedicatoria

A mis padres: Enrique y Nuhed.

A mi hermana: Gabriela Nuhed.

Al departamento de Física de la
Universidad del Valle.

A mis amigos.

Agradecimiento.

Este trabajo fue posible gracias a la colaboración de la DIRECCION GENERAL DE ENERGIA NUCLEAR, la cual proporcionó el apoyo, asesoría y el equipo para realizar las mediciones.

Quiero agradecer a la Sección Industrial, de dicha Dirección, su valiosa colaboración para realizar este trabajo.

Un especial agradecimiento al asesor del trabajo Licenciado Rony Ayala por su apoyo e interés en la realización de dicha investigación.

Y a todas las personas que colaboraron de una u otra forma para llegar a la conclusión de esta tesis.

RESUMEN

Esta tesis trata sobre la implementación de una técnica para cuantificar plomo en sangre humana. La técnica está basada en el empleo de reflexión total de rayos X. La preparación de la muestra a analizar incluye procesos físicos como ultrasonido y quemado por medio de un plasma de radiofrecuencia, además de agregar un solución patrón de un elemento conocido (estroncio) para poder realizar cuantificaciones. Los valores obtenidos se calculan por medio de una recta de regresión lineal construida en base a contaminar sangre con una solución patrón de plomo. La recta construida es posible seguirla usando y sólo se requerirá realizar las mediciones de muestras reales de las que se quiera conocer la concentración de plomo presente. Para cuantificar los efectos de matriz, homogeneidad de la muestra, se realiza una comparación al obtener valores de concentración interpolando por medio de una curva acuosa entre el elemento plomo y el patrón escogido estroncio.

La técnica implementada permite, además, un análisis multielemental simultáneo, dado que es posible cuantificar otros elementos traza en sangre total como hierro, calcio, potasio, rubidio, selenio, cobalto, fósforo, cloro, cromo, bromo, zinc, cobre y azufre.

El límite mínimo de detección para el sistema empleado es de 30 partes por billón. Se analizaron muestras reales de sangre de seis personas no expuestas y seis personas ocu-

LISTA DE FIGURAS

			Página
1	1	Radiación del fondo inducida mediante la técnica PIXE.	14
2	2	Fenómeno de reflexión y refracción de rayos X y su dependencia del ángulo de incidencia.	16
3	3	Condiciones de excitación en la geometría de reflexión total.	22
4	4	Esquema del principio de corte de altas energías.	22
5	5	Arreglo experimental empleado en reflexión total de rayos X.	24
6	6	Esquema de un plasma de radiofrecuencia.	30
7	7	Esquema de un baño ultrasónico.	30
7	7	A. Uniflexión de la muestra	31
8	8	B. Recursos materiales de la muestra	31
9	9	C. Procedimiento	31
10	10	RESULTADOS EXPERIMENTALES	32
11	11	DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	33
12	12	CONCLUSIONES	33
		RECOMENDACIONES	33
		BIBLIOGRAFÍA	33

CONTENIDO

	Página
I. INTRODUCCION	1
A. Objetivos	1
II. MARCO TEORICO	
A. El plomo y el ser humano.	3
B. Métodos para detectar plomo.	8
C. Técnicas analíticas nucleares.	10
D. Espectrometría de rayos X.	11
E. Espectrometría de reflexión total de rayos X.	15
F. Colección de la sangre.	23
G. Plasma de radiofrecuencia.	27
H. Baño ultrasónico.	28
III. METODOLOGIA EXPERIMENTAL	31
A. Universo de trabajo.	31
B. Recursos materiales.	31
C. Procedimiento.	33
IV. RESULTADOS EXPERIMENTALES	45
V. DISCUSION Y CONCLUSIONES	80
VI. CONCLUSIONES	87
VII. RECOMENDACIONES	88
VIII. BIBLIOGRAFIA	89

LISTA DE TABLAS.

Página

1	Concentración de Plomo en sangre total en personas no expuestas y ocupacionalmente expuestas.	51
2	Concentración de Plomo en sangre total en personas no expuestas y ocupacionalmente expuestas.	59
3	Concentración promedio de plomo según curva sanguínea.	64
4	Concentración promedio de Plomo según curva acuosa.	66
5	Comparación de concentraciones entre cálculo con curva sanguínea y curva acuosa.	68
6	Razón $(I_e/I_{sr}) \cdot 100$ de otros elementos.	72
7	Razón $(I_e/I_{sr}) \cdot 100$ de otros elementos.	73
8	Solución de Estroncio.	74
9	Anticoagulante CPD.	75
10	Anticoagulante Heparina Leo.	76
11	Heparina azul.	77
12	Concentración de plomo en anticoagulantes.	78

I. INTRODUCCION.

A. OBJETIVOS

1. Generales:

- a) Implementar una técnica para determinar plomo en sangre humana total utilizando la menor cantidad posible de reactivos y minimizando el tiempo de preparación de la muestra.
- b) Contribuir para poder realizar análisis de plomo en sangre humana total en Guatemala utilizando la técnica de Reflexión Total de Rayos X.
- c) Proponer una técnica que permita el análisis de otros elementos traza en la sangre para la realización de otros estudios relacionados con la salud del hombre.

2. Específicos:

- a) Realizar una aplicación de la técnica de reflexión total de Rayos X en Guatemala.
- b) Establecer el límite mínimo de detección del método para el plomo en sangre humana total con

la configuración empleada.

- c) Comparar los niveles de plomo en sangre de gente ocupacionalmente no expuesta con gente ocupacionalmente expuesta.

a) Implementar una técnica para determinar plomo en sangre humana total utilizando la menor cantidad posible de reactivos y minimizando el tiempo de preparación de la muestra.

b) Contribuir para poder realizar análisis de plomo en sangre humana total en Guatemala utilizando la técnica de Reflexión Total de Rayos X.

c) Proponer una técnica que permita el análisis de otros elementos traza en la sangre para la realización de otros estudios relacionados con la salud del hombre.

Específicos

a) Realizar una aplicación de la técnica de reflexión total de Rayos X en Guatemala.

b) Establecer el límite mínimo de detección del método para el plomo en sangre humana total con

II. MARCO TEORICO.

A. El plomo y el ser humano.

Desde épocas remotas el plomo ha sido un aliado del hombre. Según Berman(1980:117) es uno de los siete metales de la antigüedad. A pesar que su toxicidad ha sido reconocida a través de la historia.

De acuerdo con Berman(1980:116) los antiguos griegos ya reconocían su efecto nocivo. Tal es el caso que Hipócrates y Nicandor lo mencionan en sus obras. El plomo, al igual que el mercurio, son considerados metales traza. Según Giddings(1973:332) estos son metales presentes en pocas partes por millón o menos en la superficie terrestre. Además, que pequeñas cantidades pueden destruir la vida.

Dado que el plomo es altamente tóxico y que se encuentra en pequeñas cantidades, puede formularse la pregunta: por qué existe contaminación por plomo? La respuesta es su uso industrial y tecnológico. Para el habitante del imperio romano el plomo era la base de las cañerías de agua y sus recipientes para almacenar líquidos. Para el hombre del siglo veinte es la base, como antidetonante, de la gasolina. El octanaje es la medida de resistencia de la gasolina a una ignición temprana. Para lograr esto es necesario poseer un

hidrocarburo de alto octanaje. Dado que estos son caros de producir, y agregar de dos a tres gramos de plomo por galón de gasolina hace posible aumentar el octanaje. El compuesto agregado recibe el nombre de tetraetilo de plomo. De acuerdo con Waldbott(1978:143), en los años de 1970 y 1971, el promedio de gramos por galón de gasolina regular en los Estados Unidos era de 2.43 y 2.22 gramos por galón. En Guatemala, de acuerdo a un estudio de Durando(1980:10), la misma gasolina posee 0.34 gramos de plomo por litro de gasolina. El plomo sale al medio ambiente en los vapores expelidos por los escapes de los motores que utilizan gasolina. De acuerdo con Giddings(1973:351) en los años setenta se expelían a la atmósfera 250,000 toneladas de plomo en los Estados Unidos. Esta cantidad representaba el 98% del plomo contaminante en este país. Otras fuentes de plomo son, de acuerdo con Sax(1979:111) producción de acumuladores, minería, pinturas y fundición metalúrgica.

Dado que el plomo es nocivo, valdría plantear la pregunta: ¿cómo afecta a la salud del hombre? La intoxicación por plomo presenta síntomas muy parecidos a varias enfermedades. Según Giddings(1973:350) algunos síntomas son anemia, fatiga, irritabilidad y dolores de cabeza. El plomo afecta al ser humano, según

Waldbott (1978:145), en dos formas importantes: retarda la maduración normal de las células rojas lo que implica una anemia; e inhibe la síntesis de hemoglobina. Debe mencionarse, además, que el envenenamiento con tetraetilo de plomo afecta las centrales nerviosas de acuerdo con Berman(1980:120), Waldbott (1978:148) y Baselt(1980: 714). Según Morehead (1965:325) los principales cambios anatómicos al envenenarse con plomo son cambios en el tracto gastrointestinal, cambios en el sistema hemolito-poyético y en el sistema nervioso. La ingestión de plomo produce necrosis, inflamación y hemorragia en la mucosa gastrointestinal. Según Valkovic (1980:101) los efectos que produce el plomo son: pérdida de apetito, sabor metálico en la boca, anemia, malestares, debilidad, dolor de cabeza e irritabilidad nerviosa. Además, puede ocurrir encefalitis e interferencia con la síntesis de heme. La heme es un constituyente de la hemoglobina.

El plomo llega al ser humano por medio de tres vías: inhalado, ingerido o absorbido. La inhalación se produce en los pulmones debido a la respiración, dado que el tamaño de las partículas. De acuerdo con Giddings (1973:349), un hombre promedio puede inhalar, en un ambiente con 2 microgramos de plomo por metro cúbico de aire, alrededor de 40 microgramos de plomo

por día. De esta cantidad retiene en su cuerpo el 40%, o sean 16 microgramos de plomo por día. De acuerdo con Baselt(1980:159), se retiene entre el 30 y el 45% del plomo inhalado. La ingestión de plomo se produce debido al consumo de alimentos y bebidas. El hombre común puede ingerir unos 300 microgramos de plomo en su dieta, según Balset(1980:159) y Berman(1980:119), queda en el cuerpo entre 5 y 10%. El resto es excretado en las heces fecales y la orina. La absorción debe llevarse a cabo por medio del contacto con la piel. Esta no es una vía alta de intoxicación. Dada su forma estructural, los compuestos con plomo no pueden penetrar fácilmente la piel. Según Baselt (1980:159) el valor máximo permitido en un ambiente de trabajo, con plomo, debe ser de 0.15 mg/metro cúbico. De acuerdo con Berman(1980:119) la Organización Mundial de la Salud recomienda que la cantidad diaria de plomo no exceda los 5 microgramos por kg de peso. Según Morehead (1965:325), la dosis letal oral para sales solubles de plomo es aproximadamente 10 gr mientras que la dosis letal de tetraetilo de plomo es 0.1 gr, éste puede ser inhalado, absorbido através de la piel o por el tracto gastrointestinal. Según Valkovic (1980: 101), el tetraetilo de plomo es 100 veces más tóxico que el plomo inorgánico. Este tiene la característica de

asociarse con las mielinas de los nervios, debido a su afinidad con las grasas.

Una vez que el plomo ha llegado al cuerpo humano y es retenido es transportado por la sangre. Según Baselt (1980:159) y Berman (1980:120) el 90% del plomo absorbido, en condiciones estables, es depositado en los huesos. En ellos puede ocupar el lugar del calcio. En la corriente sanguínea, según Berman(1980:119) el 95% del plomo circula en los eritrocitos y el restante 5%, en el plasma. Mientras que Baselt (1980:421) sostiene que el 99% del plomo se encuentra en los eritrocitos. De acuerdo con Waldbott (1978:145), existe mucho más plomo en los eritrocitos que en el plasma, respectivamente 0.24 ppm y 0.015 ppm. El nivel de plomo en la sangre es un reflejo del grado de intoxicación presente. Aunque puede detectarse plomo en otras partes del cuerpo, como en el cabello, los huesos y en tejidos; la información que brindan es la diferencia entre cantidades absorbidas y excretadas. Según Berman(1980:125) el contenido de plomo en sangre es el mejor indicador de absorción reciente; mientras que analizar cabello, dientes y otros es una información eminentemente de valor histórico. Por ejemplo, según Waldbott(1978:145) en huesos de 500 años atrás existían 5 ppm de plomo mientras que en huesos actuales existen

50 ppm. De acuerdo con Giddings (1973:350), el promedio de plomo en la sangre del hombre actual, 0.20 ppm, excede en un factor de 100 al promedio del hombre primitivo, 0.0025 ppm. Los niveles normales de plomo en la sangre humana, según Baselt(1980:159) deben ser menores o iguales a 0.40 mg/litro. Un trabajador ocupacionalmente expuesto puede tener concentraciones que promedian los 0.60 mg/litro. Según Berman(1980:125) 20 microgramos o menos es normal, cercanos a 40 microgramos indica una exposición alta a plomo. Niveles de 60 microgramos son considerados diagnósticables y se sugiere hospitalización cuando hay niveles de 80 microgramos o más. Según Perkins(1974:351), adultos que posean menos de 80 microgramos de plomo en la sangre y 150 microgramos por litro en la orina son condiciones normales, aunque reconoce que algunas autoridades piensan que 40 microgramos/100 cc es el límite. Según Berman(1980:125) la excreción de plomo en orina es de 80 microgramos por litro, en niños y 150 microgramos por litro, en adultos.

B. Métodos para detectar plomo.

Para seleccionar un método para detectar plomo en un laboratorio deben tenerse en cuenta algunos factores

como disponibilidad del equipo, el número de muestras que han de analizarse por día, el propósito del análisis y la experiencia del laboratorista. Para cuantificar plomo en sangre humana se emplean varios métodos. En Guatemala se utiliza, principalmente, el método colorimétrico. Según Pimental(1976:8) estos métodos se basan en la formación de un complejo de color rojo, debido a la interacción del plomo que se combina con la ditzona que se forma después de la destrucción de la materia orgánica por causa de una mezcla digestora. El nombre del método empleado es el propuesto por Gradwohl, Bauer & Rice. Este es un método de rutina en laboratorios en muchas partes del mundo, dado que emplea equipo relativamente simple. En Guatemala, también se emplea absorción atómica, pero a pesar de poseer el equipo necesario, el análisis de muestras de sangre no es procedimiento de rutina y la mayoría de laboratorios prefieren no hacerlo. Además, debe tenerse en cuenta la contaminación, que afecta a los resultados, debido a que el equipo analiza otros compuestos.

Otros métodos que se emplean para cuantificar plomo en sangre humana, según Kaplan(1984:1370), son absorción atómica y métodos electroquímicos. Se conocen con el nombre de Absorción atómica clásica, técnica de Delves para microescala y horno de grafito para

absorción atómica, mientras que el método que emplea voltametría recibe el nombre de voltametría iónica. De acuerdo con Kaplan(1984:1374,) se hizo un estudio de comparación de los métodos empleados en los laboratorios de Estados Unidos y una de sus conclusiones es la importancia de la limpieza, tanto en la cristalería a emplear como en el laboratorio mismo. El estudio consistió en analizar una muestra común en laboratorios donde se utilizan técnicas distintas, para luego intercomparar resultados. Una conclusión importante fue que para determinar un elemento traza debe trabajarse muy cuidadosamente, dado que cualquier interferencia haría variar los resultados. La técnica más confiable era la de voltametría iónica.

C. Técnicas analíticas nucleares.

Entre las técnicas analíticas nucleares que se pueden utilizar para detectar plomo en sangre están:

- a) Emisión de Rayos X inducidos por protones (PIXE).
- b) Espectroscopia de emisión de Rayos X inducidos por partículas cargadas.
- c) Fluorescencia de Rayos X.
- g) Espectrometría Gamma y Alpha.

ha debido, principalmente, a espectrómetros de energía dispersiva que poseen una alta resolución. Detectores como los de Silicio-litio, Germanio-litio o HP-Germanio permiten la determinación simultánea de elementos mayores, menores o traza para números atómicos (Z) mayores de once (este corresponde al elemento sodio). Los rangos de concentraciones detectables están en partes por millón o nanogramos de masa absoluta. Si a las muestras a analizar se le aplican métodos físicos especiales con el fin de optimizar la excitación, puede conseguirse un límite mínimo de detección (LMD), con una pre concentración, de partes por billón o una masa absoluta de picogramos. El deseo de obtener estos límites de detección, radica en la necesidad de estudiar elementos traza, por ejemplo la cantidad de plomo en sangre humana.

Detectar elementos traza tiene el problema de que los nanogramos a detectar pueden pertenecer a una base o matriz de materiales de varias composiciones.

La preparación de la muestra tiene una importancia relevante, además que el número de cuentas, en el respectivo pico, debe representar una señal que debe ser diferenciable de las fluctuaciones estadísticas del fondo. Como resultado de consideraciones estadísticas, el límite mínimo de detección (LMD), viene dado por el

h) Espectrometría de Rayos X.

D. Espectrometría de rayos X.

1.- Sistemas dispersivos en longitudes de onda.

Estos utilizan un detector de cristal como yoduro de sodio (NaI).

2.- Sistemas dispersivos en energía.

Estos utilizan una fuente excitadora, que puede ser una fuente radiactiva o un tubo de rayos X, y un detector, que generalmente es un semiconductor.

Las ventajas de emplear este sistema son:

- a) los espectros de rayos X son relativamente simples.
- b) Es una análisis no destructivo.
- c) El material puede estar en diversas formas.
- d) Los requerimientos para preparar la muestra son mínimos.
- e) Puede realizarse un análisis multielemental simultáneamente.
- f) Pueden aplicarse a concentraciones que van desde 1 ppm hasta un 100%.
- g) La excitación es simple.
- h) Es independiente del estado de excitación.

El progreso en la fluorescencia de rayos X (FRX) se

el número de cuentas de una señal neta que es igual a tres veces la desviación estándar del número de cuentas del fondo para un determinado tiempo. Esto puede expresarse así:

$$(1) \quad N_{\text{MIN}} = 3(N_{\text{BACK}})^{1/2}$$

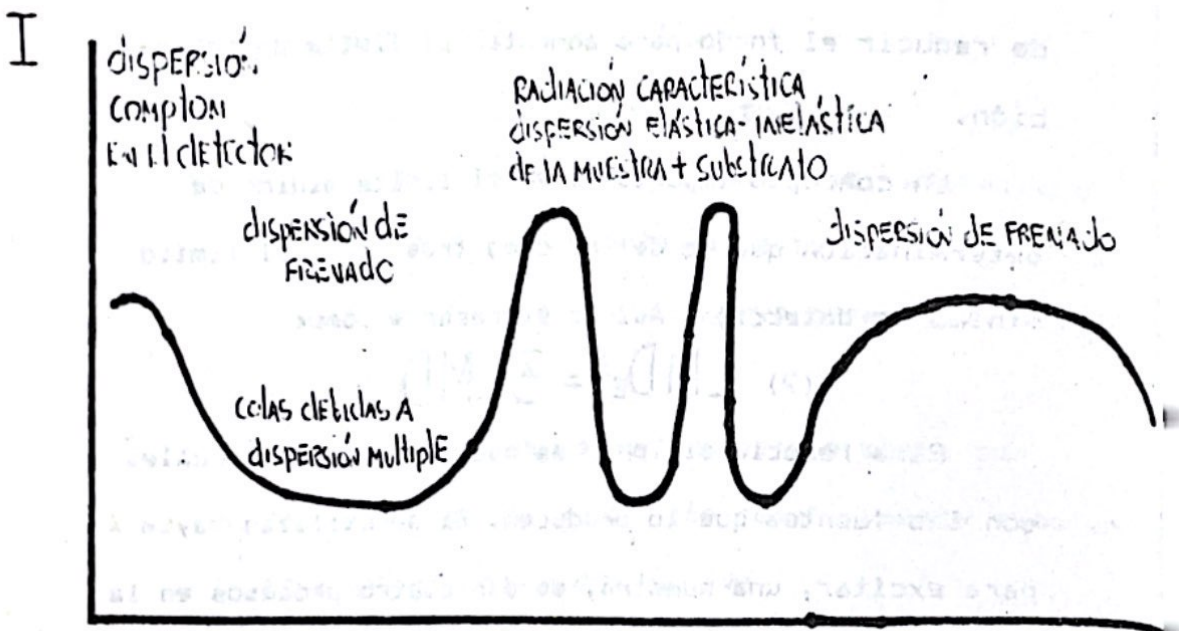
De esta expresión es posible observar la necesidad de reducir el fondo para aumentar el límite de detección.

Un concepto importante es el límite mínimo de determinación que se define como tres veces el límite mínimo de detección. Así lo expresamos como:

$$(2) \quad \text{LMD}_{\text{ET}} = 3\text{LMD}$$

Para reducir el fondo es necesario conocer cuáles son las fuentes que lo producen. Si se utilizan rayos X para excitar, una muestra, se dan cuatro procesos en la región energética: efecto fotoeléctrico, dispersión Compton, dispersión elástica y el efecto Auger. La figura I muestra un espectro típico del fondo producido por la técnica PIXE. Se aprecian las interacciones del rayo primario con la muestra, con el sustrato y con el detector de cristal. El fondo es causado por dispersión elástica e inelástica de la radiación de frenado (bremsstrahlung) del tubo de rayos X. A eso agregamos impurezas en el ánodo y el sustrato mismo. La dispersión del fondo Compton, especialmente la de

Figura # 1: Radiación inducida del fondo mediante la Técnica PIXE.



fotones de alta energía del cristal detector, causan la subida en el fondo para el lado de pequeñas energías. Para reducir la radiación inducida del fondo deben desarrollarse técnicas especiales.

E. Espectrometría de reflexión total de rayos X.

Una de las técnicas empleadas es la excitación utilizando una geometría llamada de reflexión total. La reflexión total del rayo X ocurre cuando un haz colimado incide sobre una superficie plana, limpia y pulida de un reflector de un material dado. La incidencia debe llevarse a cabo a un ángulo que esté debajo del ángulo crítico. Debe recordarse el fenómeno de reflexión-refracción mostrado en la figura II. Si el ángulo de incidencia, ϕ , es mayor que el ángulo crítico, el rayo X es refractado al medio. Si alcanzara el valor del ángulo crítico, el rayo se propagaría a lo largo de la superficie del medio. Si fuera menor al ángulo crítico, se reflejaría todo el haz. El ángulo de incidencia sería el mismo que el ángulo de reflexión, además que la intensidad del haz se conservaría.

Del electromagnetismo clásico, despreciando resonancia de absorción y efectos relativistas, es posible encontrar una relación para dicho ángulo crítico, esta viene dada por:

$$(3) \phi_{\text{crit}} = \left(5.4 \times 10^{10} \frac{\rho Z}{A} \lambda^2 \right)^{1/2}$$

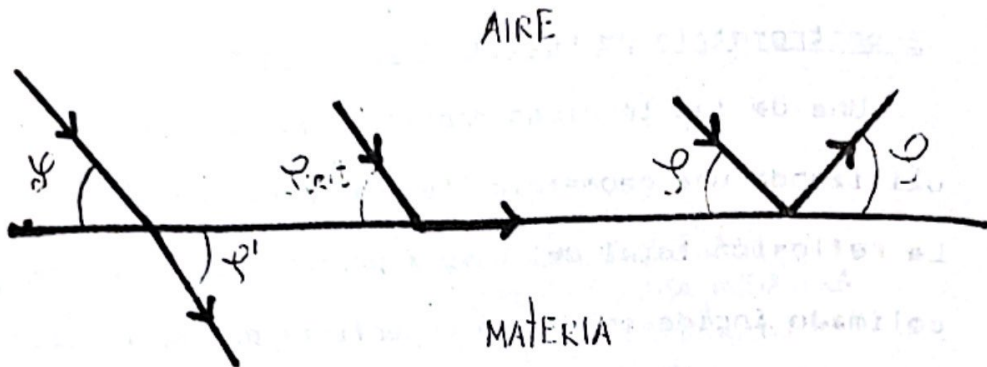


Figura # 2: Fenómeno de reflexión y refracción de Rayos X y su dependencia del ángulo de incidencia.

donde Z corresponde al número atómico, A es el peso atómico, λ es la longitud de onda y ρ es la densidad.

Los valores de estos ángulos, usualmente, son del orden de milirradiares. Esto implica que en el aparato a utilizar debe emplearse un ajuste muy preciso.

La reflexión total no ocurre realmente y siempre debe tenerse en cuenta el fenómeno de absorción. El haz sufre una pequeña penetración en el medio, esto provoca interacción rayo-medio. Definimos la penetración como el lugar donde la intensidad del rayo primario es reducida a un valor $1/e$, para calcularla se utiliza:

$$(4) \quad X_p = \frac{1}{2} \sqrt{\frac{\lambda}{\mu_T}}$$

donde λ corresponde a la longitud de onda del haz incidente y μ_T es el coeficiente de absorción lineal.

La técnica de reflexión total de rayos X ha sido conocida desde la mitad de la década del setenta, sin embargo su utilización no se había desarrollado debido a la falta de instrumentos adecuados, diseño mecánico y falta de técnicas para preparar muestras. En la actualidad se ha convertido en un procedimiento de rutina en muchas partes del mundo.

El reflector, que es en forma de disco, debe ser una superficie de cierta calidad y que cumpla ciertas propiedades. En el centro debe llevar la muestra a analizar y ésta, preferiblemente, debe ser lo más delgada

posible. El rayo colimado primario incide sobre la superficie del reflector con ángulos menores al ángulo crítico. Esto actúa de dos formas: de todas las áreas que estén cubiertas por muestra, el rayo es eficientemente absorbido por la muestra y la excita de tal forma que emite radiación fluorescente; mientras que de las áreas sin muestra el haz es totalmente reflejado. El proceso de interacción con el sustrato de la muestra (el reflector) es minimizado y sólo ocurre con una pequeña profundidad de penetración del orden de los nanómetros. La contribución al fondo de la dispersión elástica e inelástica es drásticamente reducida si se le compara con la del sustrato, capas de mylar o kaplan, que poseen unos pocos micrómetros de grosor.

Otra ventaja que es inherente a esta geometría es que dado que existe una dispersión angular de la sección transversal de dispersión, que muestra un mínimo de noventa grados, y que el ángulo entre la radiación primaria y la dirección del detector es noventa grados, esta contribución a la dispersión del fondo es también minimizada.

Finalmente, el haz colimado posee dimensiones de aproximadamente 0.1 mm de ancho y unos 8 mm de altura y presenta un ángulo de incidencia pequeño, dadas las distancias muestra-ventana de berilio y ventana-detec-

tor. En general, el tamaño de la muestra no excederá las dimensiones del cristal detector (unos de 4-6 mm).

El material del que está hecho un reflector debe poseer algunos requerimientos básicos. Estos son:

- a) extremadamente puros.
- b) Sólidos.
- c) Químicamente resistentes (por ejemplo a ácidos).
- d) Fáciles de manipular.
- e) Amorfos o cristalinos.
- f) Sus líneas características deben estar fuera de la región energía a estudiar.
- g) Su superficie debe ser de alta calidad, plana con un flatness de: $\frac{\lambda}{20} - \frac{\lambda}{10}$; 589 nanómetros, coeficiente de rugosidad menor a un micrómetro.
- h) Precio razonable.

De experimentos prácticos se encontró que los materiales que cumplen estos requerimientos son el Suprasil o Synsil, los Si-wafers y el Ge Hiperpuro, por ende, son reflectores adecuados. Su costo es aproximadamente de quince dólares por unidad.

Podemos resumir diciendo que el reflector para muestras posee propiedades parecidas a las de un disco de 30 a 40 mm de diámetro y con un espesor de 3 a 5 mm, además posee una contribución pequeña al fondo comportándose como algo ultrafino, de algunos nanómetros.

El fondo, debido a bajas energías, es inducido por los fotones de alta energía, los cuales son dispersados por el cristal detector. Los electrones del Compton producen un incremento del fondo, debido a que existe una diferencia de energía entre los fotones incidentes y los dispersados que penetran al cristal. Por esta razón es necesaria una excitación eficiente con radiaciones intensas de los materiales del ánodo y una pequeña energía de la región de frenamiento, sin embargo la región de alta energía de la región de frenamiento no es importante. Si insertamos un reflector total en el haz primario entre el colimador y el reflector con la muestra, la distribución espectral puede alterarse para suprimir altas energías de la región de avalancha. El ángulo crítico y las energías de los fotones están correlacionadas. La expresión está dada por:

$$(5) \quad \phi_{\text{CRIT}} (\text{mRAD}) = \frac{32.3}{E (\text{KeV})}$$

Si el reflector es ajustado a un cierto valor del ángulo crítico, sólo los fotones que posean una energía de:

$$(6) \quad E_1 = \frac{32.3}{\phi_1}$$

o menos serán reflejados. Todos los fotones con energías altas requieren un ángulo menor para ser reflejados. Estos fotones de alta energía penetran en el

reflector en la forma de un haz refractado. Esto es conocido como el "corte de altas energías" (high energy cutt off). El rayo reflejado posee una distribución espectral arriba de la energía E_0 (la que puede llamarse energía de corte) denominada E_{cut} . Dado que en la reflexión total existe una reflectividad alta (90% o más) esta técnica es útil para obtener un haz de intensidad alta que posea un ajuste con energía cercana a la radiación característica del ánodo, y condiciones excelentes para excitación eficiente y un fondo bajo para la región de energías pequeñas. El arreglo experimental se muestra en las figuras III y IV.

El rayo colimado que incide sobre el reflector, que está ajustado al valor deseado, define la energía de corte. La parte del haz primario que pasa paralelamente a su superficie es completamente absorbido por un detenedor del haz (beam stopper) de acero inoxidable.

La parte reflejada entra a excitar a la muestra y los fotones fluorescentes producidos son introducidos al detector de Si(Li), luego de atravesar la ventana de berilio. Aquí inicia el proceso electrónico de ir a un pre-amplificador, luego a un amplificador para llegar al multicanal. En éste se presenta el espectro de la muestra analizada. Desplazando el cursor pueden

Figura # 3: Condiciones de excitación en la Geometría del Reflexión Total.

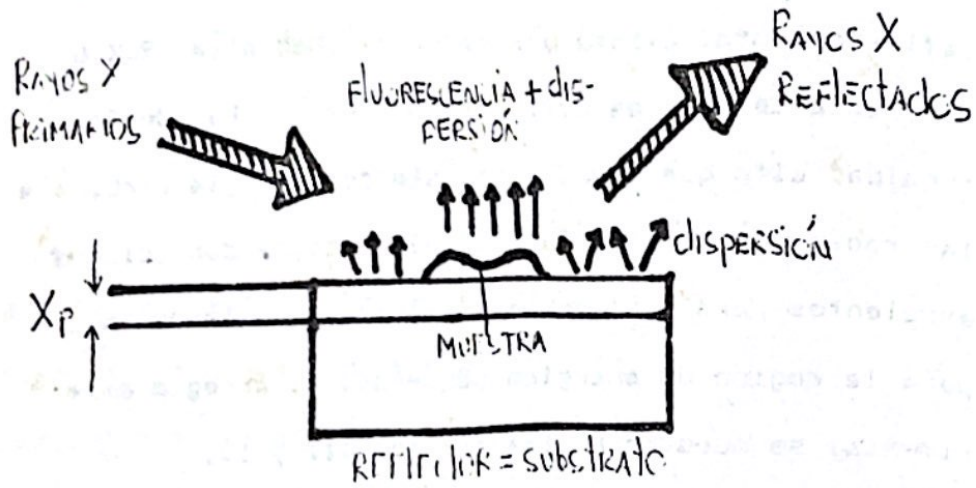
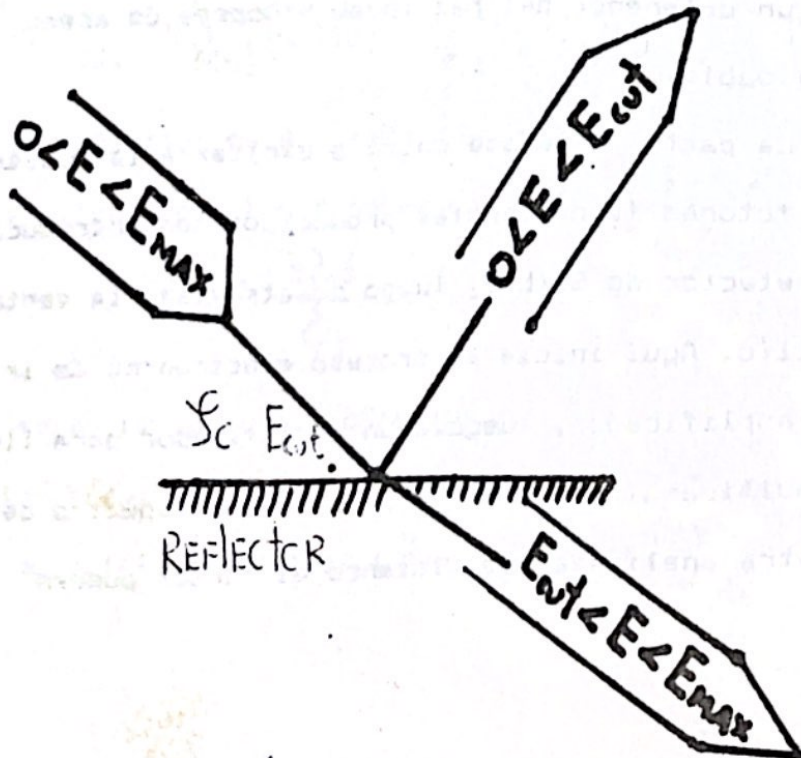


Figura # 4: Esquema del principio de corte de altas energías.



determinarse las energías de los picos presentes. Al finalizar la etapa de colección se puede transferir a una computadora, la cual posee un programa que analiza y proporciona resultados de los elementos a cuantificar.

Para cuantificar la utilidad de esta técnica se pueden calcular los límites mínimos de detección, así:

(6) $LMD = \frac{3 \sqrt{N_b}}{N_{STANDARD}} m_{STANDARD}$

donde N_b es el número de cuentas del fondo correspondiente a una línea fluorescente, N es el número de cuentas netas en una línea fluorescente, m es la masa absoluta, concentración o densidad de área del estándar.

Los límites de detección, según Michaelis(1985-75), para una configuración de reflexión total, son de 10 picogramos para veinte elementos y abajo de los 20 picogramos para más de 40 elementos. Sin pre-concentrar esto, implica límites abajo de 0.1 y 0.2 partes por billón respectivamente. En el sistema empleado en Guatemala, que se muestra en la figura V, se logró un límite mínimo de detección, para plomo, de 0.03 partes por millón (30 ppb).

F. Colección de la sangre.

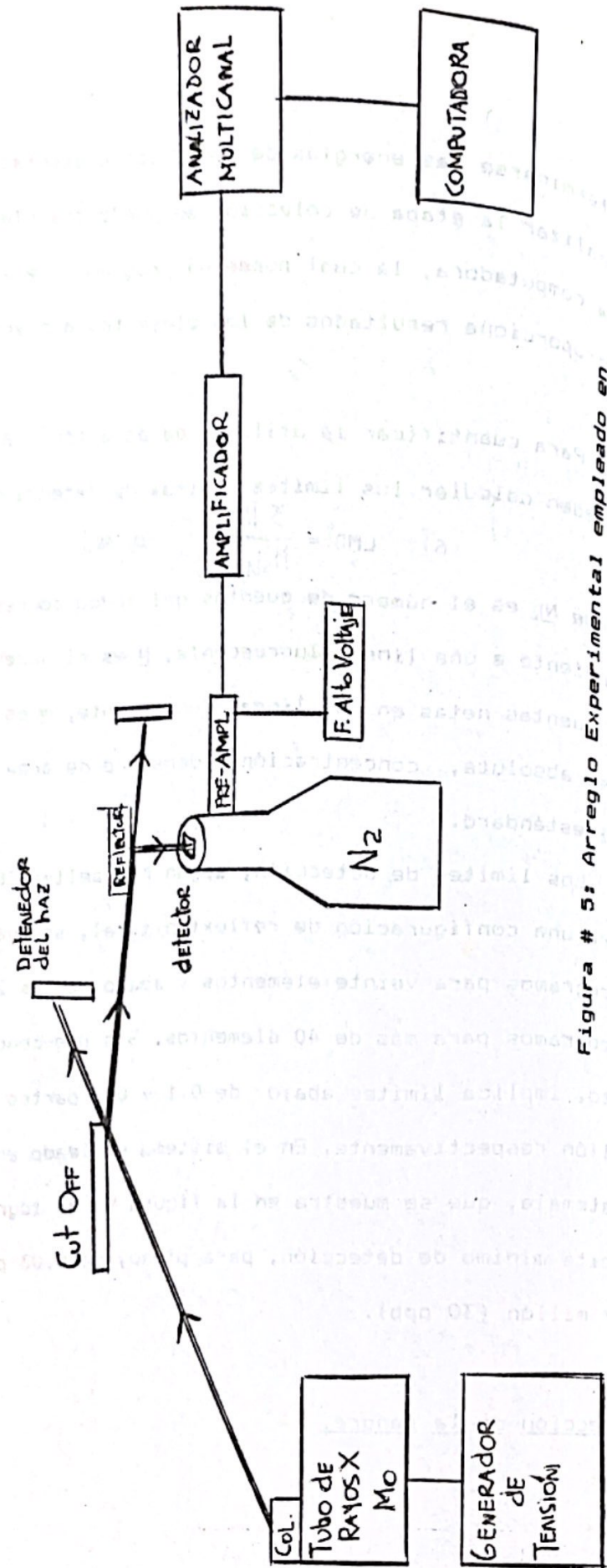


Figura # 5: Arreglo Experimental empleado en Reflexión Total de Rayos X.

La sangre es una suspensión de células en una matriz de proteínas y sales. La sangre se divide principalmente en dos partes: el serum y el plasma. El plasma es la porción no celular de la sangre que contiene una serie de proteínas, algunas de las cuales están envueltas en el proceso de coagulación. Al completarse el proceso de coagulación, el fluido no celular que se puede separar del agua es llamado serum. La sangre que se emplea en el análisis bioquímico puede ser colectada de las venas, arterias y capilares. Según Richterich(1981:94) la sangre arterial sólo se utiliza en casos especiales. La sangre arterial puede presentar el fenómeno de hemólisis o el apareamiento de líquidos intersticiales. El fenómeno de la hemólisis produce un incremento en la concentración del serum que es falsa en comparación con las existentes en las células rojas. Por otra parte, para aquellas sustancias que existen a concentraciones bajas, en las células rojas, la hemólisis provoca un efecto de dilución en los constituyentes del serum. Según Kaplan (1984:47) entre las sustancias afectadas por la hemólisis están el hierro, calcio y magnesio. La sangre venosa es utilizada, generalmente, debido a que es fácil de colectar. Al realizar análisis de elementos en sangre puede emplearse el serum o el plasma. El uso del plasma es conveniente si no se quiere interferencia

BIBLIOTECA
DE LA
UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

causada por la hemólisis. Sin embargo, para analizar algunos elementos no existe diferencia entre utilizar uno u otro. Según Richterich(1981:96) para el calcio y el sodio no hay diferencia significativa, pero para el potasio si existe. De acuerdo con Richterich(1981:96) el uso de la sangre completa es permitido cuando la concentración en ambas partes de la sangre sea parecida. La diferencia entre emplear sangre total y serum o plasma radica en el contenido de agua presente en cada uno de ellos. Respectivamente poseen 84% y 93%. Al colectar sangre debe depositarse en recipientes adecuados que generalmente contienen un anticoagulante. Según Richterich(1981:102) existen varios como: el oxalato, citrato, soluciones ACD, fluoruro, EDTA y heparina. La selección de uno de ellos está en función de el tiempo que se quiere preservar la sangre sin coagular, y además el uso que se le dé. Por ejemplo si se utiliza para transfusión o para análisis. Las bolsas de transfusión, de 500 ml, poseen un anticoagulante llamado CPD (anticoagulante de citrato, fosfato y dextrosa). Este es estable por periodos de hasta tres meses. La heparina es el anticoagulante fisiológico dado que está presente en la sangre en concentraciones pequeñas. Su acción anticoagulante es compleja y de múltiples etapas. Su tiempo de preservación es de una a dos sema-

nas como máximo.

G. Plasma de radiofrecuencia.

Un gas a baja presión se rompe al colocar un campo eléctrico estacionario. Si colocamos un campo eléctrico alterno, el gas, además de romperse, forma un plasma.

Existen algunas ventajas en usar un esquema que posea la capacidad de formar y mantener una descarga. Una posibilidad es emplear electrodos de descarga.

El campo eléctrico alterno penetra el dieléctrico del vidrio sin dificultad y acelera electrones a energías arriba del potencial de ionización del gas.

La densidad del plasma estacionario que se produce por la ionización y recombinación, usualmente es sólo un pequeño porcentaje de la densidad del fondo del gas neutral. Las densidades del plasma son típicamente del orden de 10^{-3} por centímetro cúbico.

Muchas veces, un plasma de radiofrecuencia puede ser creado en un campo magnético. Esta modificación produce plasmas con energías sustancialmente altas, comparadas con las que ocurren en los producidos en los campos no magnéticos. Para una fuente de radiofrecuencia de micro-ondas (3 m-pulg, 10 Kw magnetrons) produce plasmas con electrones de temperatura en el

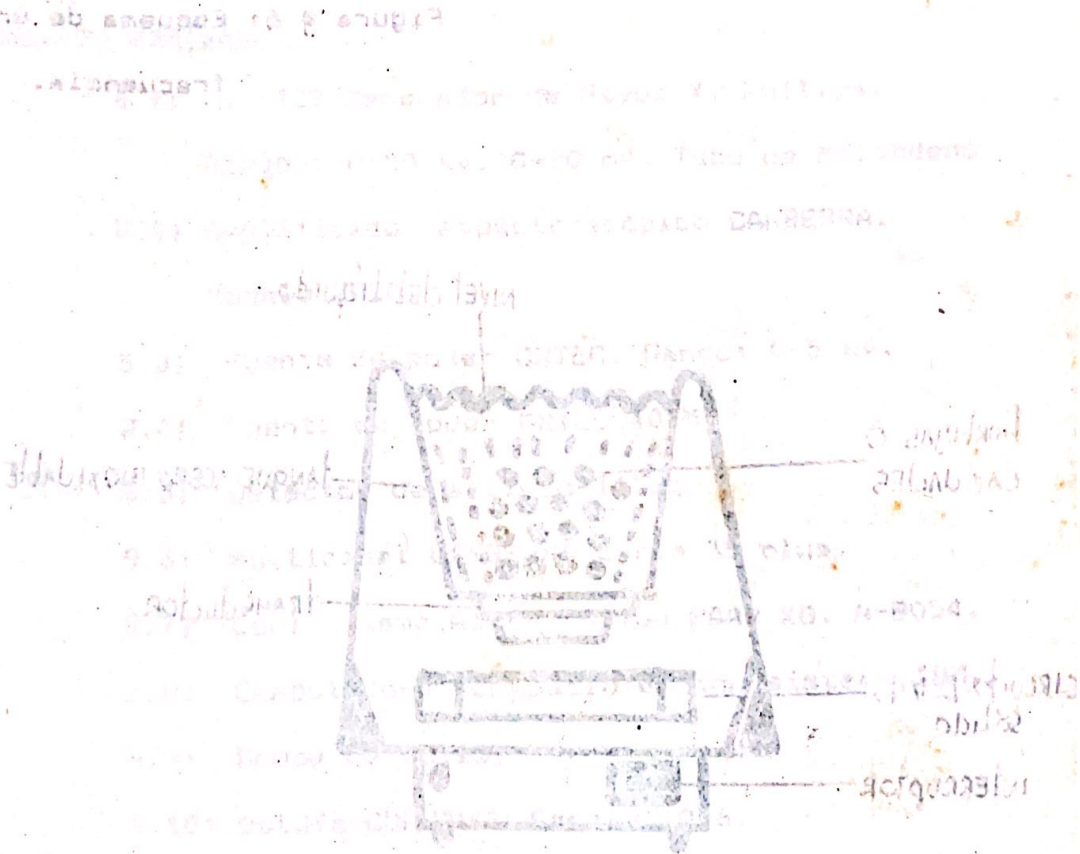
rango de los 20 Kev.

El hecho de utilizar un plasma de radiofrecuencia permite, según Valkovic(1980-208), incrementar la concentración de elementos con número atómico mayor o igual al número veintiseis. Con ello es posible retirar elementos como hidrógeno, carbono, nitrógeno y oxígeno, que son componentes mayoritarios de la sangre. Un esquema de un plasma de radiofrecuencia se presenta en la figura VI.

H. Baño ultrasónico.

Un baño ultrasónico utiliza ondas o vibraciones mecánicas dentro del rango humano de audición (20 a 20,000 Hz). El baño opera a frecuencias alrededor de 55,000 ciclos por segundo. Las ondas de sonido son producidas por un transductor que posee la capacidad de cambiar energía eléctrica de alta frecuencia en energía mecánica. Esta energía mecánica o vibracional es acoplada al líquido que contiene el tanque. Las vibraciones causan ondas de presión altas y bajas, alternadas, en el líquido. Esta acción forma millones de burbujas microscópicas que se expanden durante las ondas de presión baja y forman pequeñas cavidades. Durante las ondas de alta presión, estas cavidades se colapsan o

implotan creando un área de alto vacío sobre el recipiente sumergido. Esta acción se lleva a cabo a 55,000 veces por segundo. El ultrasonido actúa vigorosamente sobre materiales como el vidrio, cerámica, metales y plásticos duros. El ultrasonido es absorbido por materiales suaves o porosos como hule, fibras y líquidos viscosos. Un esquema de una bañó ultrasónica se presenta en la figura VII.



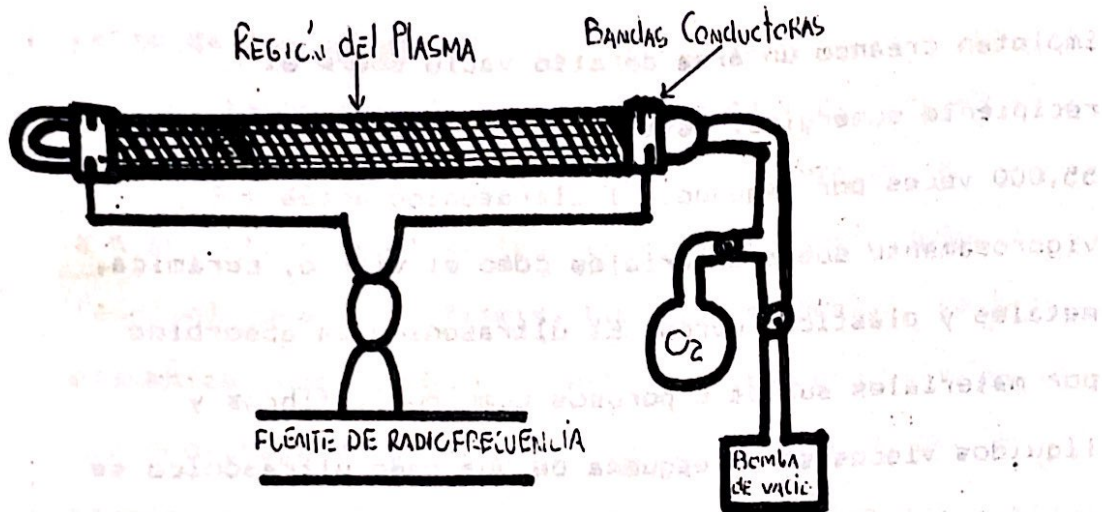


Figura # 6: Esquema de un plasma de radio-frecuencia.

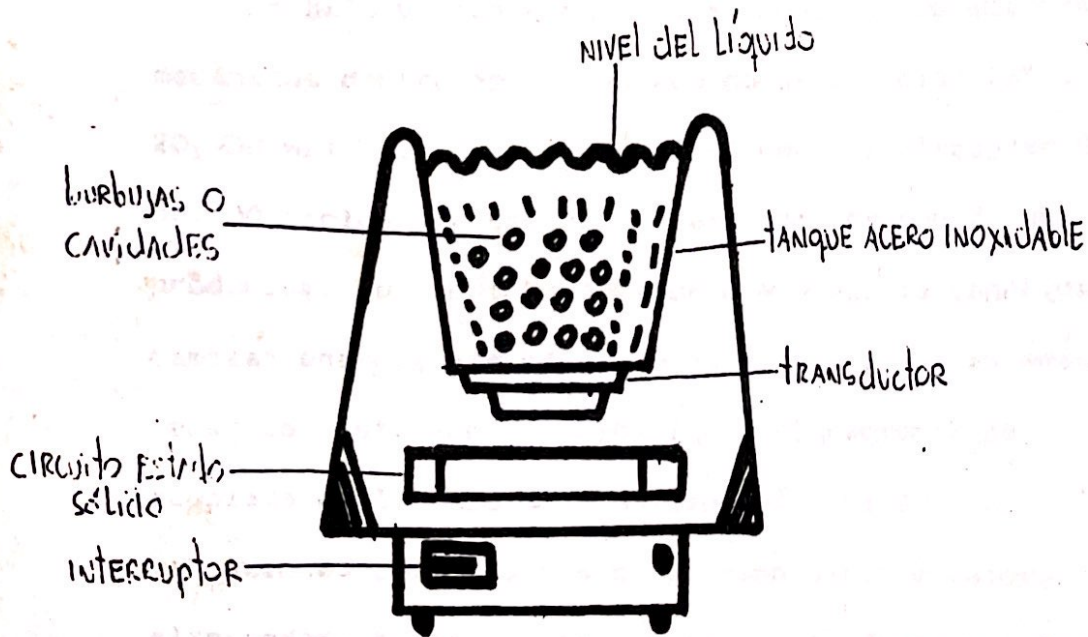


Figura # 7: Esquema de un baño ultrasónico.

III. METODOLOGIA EXPERIMENTAL.

A.- Universo de trabajo.

Se tomaron muestras de sangre de seis pacientes no expuestos y seis muestras de pacientes, ocupacionalmente, expuestos (fabricantes de acumuladores).

B.- Recursos Materiales.

1) Equipo empleado:

B.1) PW 1729 Generador de Rayos X. Philips.

Rangos: 0-50 Kv. 0-20 mA. Tubo de Molibdeno

B.2) Amplificador espectroscópico CANBERRA.

Modelo 2020.

B.3) Fuente de poder ORTEC. Rango: 0-5 Kv.

B.4) Fuente de poder ORTEC 402M.

B.5) Detector de silicio-litio.

B.6) Multicanal CANBERRA Serie 35 plus.

B.7) Cool plasma Asher. Anton PAAR KG. A-8054.

B.8) Computadoras compatibles con sistema IBM.

B.9) Bomba de vacío.

B.10) Estufa CORNING. Escala: 0-6.

B.11) Desecadora con conexión para manguera.

B.12) Baño ultrasónico. BRANSONIC 12.

B.13) Reflectores de SUPRASIL.

B.14) Micropipetas de los siguientes rangos:

0-20, 0-200 y 250-800 microlitros.

B.15) Termómetro. Rango: 0-200 grados celsius.

B.16) Balanza analítica marca: Sartorius. Rango:
0-200 gramos.

B.17) Cristalería: tubos de ensayo, erlenmeyers,
probetas de 10, 100 y 500 ml, perlas de
ebullición, balones aforados de 25, 50,
100, 500 y 1000 mililitros, y vidrios de
reloj.

B.18) Agitador magnético.

B.20) VORTEX.

B.21) Varilla de teflón.

B.22) Papel limpiador de lentes (LENS CLEANER) y
toallas KIMWIPES.

B.23) Programa computacional AXIL (desarrollado
por el Organismo Internacional de Energía
Nuclear y colaboradores).

2) Reactivos:

a) Limpieza de la cristalería.

B.21) Trióxido crómico grado analítico.

B.22) Acido nítrico concentrado.

b) Digestión de muestras.

B.23) Acido sulfúrico concentrado.

B.24) Acido perclórico al 70%.

B.25) Hidróxido de amonio concentrado.

B.26) Acetona.

B.27) Soluciones patrón de Plomo, estroncio y selenio.

c) Toma de muestras.

B.28) Heparina Leo 5000 ui/ ml.

B.29) CPD. Anticagulante Dextrosa, Fosfato y Citrato. USP.

B.30) HA Heparina. Medic TEIM.

C) Procedimiento.

1) Limpieza de la cristalería.

Reactivos:

A.1) Solución crómica caliente. Disolver 25 g de trióxido crómico, grado analítico, en 2.5 litros de ácido sulfúrico, grado analítico. Agitar con una varilla recubierta de teflón. Esta mezcla debe utilizarse a una temperatura de 50 grados celsius. Esta solución es estable por seis meses. Debe desecharse al cambiar de color rojo a verde.

A.2) Solución limpiadora de Acido Nítrico. Diluir ácido nítrico concentrado con un volumen igual de agua destilada o bidestilada. Esta solución es estable

por un año.

Para estar seguro que la cristalería esté libre de plomo es necesario utilizar el siguiente procedimiento:

- 1.- Lavar con detergente y agua del chorro. Luego hacer lavados con agua del chorro y agua destilada.
- 2.- Vertir solución crómica en el recipiente a lavar, y remojar todas las paredes del recipiente. Manejar con precaución, dado que produce quemaduras graves. Debe desecharse en un frasco de desechos y disponer de ella como un material altamente dañino. Lavar luego con agua del chorro y agua destilada.
- 3.- Remojar durante 30 minutos en la solución limpiadora de ácido nítrico. Luego lavar con agua del chorro, destilada y bidestilada.
- 4.- La cristalería que haya utilizado para determinar plomo en sangre, debe repetir sólo el paso 3.

Nota: Debe tener la precaución que la cristalería sometida al proceso de limpieza sólo se emplee para determinar plomo u otros elementos traza. Esto con el fin de evitar contaminación de otras fuentes. El equipo que sea de polietileno puede ser sometido al mismo tratamiento.

B) Limpieza de reflectores.

- 1.- Los reflectores son sometidos al procedimiento de limpieza de la parte C.
- 2.- Para secarlos se colocan en una desecadora que está conectada a una boma de vacío. Se conecta la bomba de vacío por de 15 minutos.
- 3.- Limpiar los reflectores con una toalla fina: Lens cleaner o Kimwipes, esto se hace para retirar lo que seca sobre la superficie del reflector.
- 4.- Un reflector que haya sido utilizado se lava con agua desionizada para retirar las cenizas, se le pasa una toalla fina y se deja en remojo en la solución de ácido nítrico-agua destilada por 45 minutos. Luego se repite el paso 2.

C) Procedimiento.

C.1) Calibración del tubo de rayos X.

- 1) Colocar centrado y sobre un reflector cinco microlitros de una solución patrón de selenio.
- 2) Colocar en una desecadora, unida a una bomba de vacío y secar por 3 minutos.
- 3) Colocar en el aparato de reflexión total de rayos X

y medir por 10 segundos, utilizando las condiciones 40 Kv y 20 mA en el tubo de Molibdeno.

- 4) Verificar en el multicanal que el área bajo el pico de $E=11.207$ KeVs sea igual o superior a las 50,000 cuentas. Si se obtiene este resultado es posible realizar mediciones, de lo contrario es necesario realizar un ajuste al "Cut Off". Para lograr el menor fondo posible y la máxima intensidad en el espectro ajustar el ángulo entre la dispersión Compton Incoherente y Coherente hasta obtener que la relación entre los picos K-beta y K-alfa sea tal que $K_{beta} \geq K_{alfa}$.
- 5) Las condiciones de operación del tubo de rayos X obtenidas son válidas mientras esté encendido. Al apagar voluntaria o involuntariamente (un corte de energía eléctrica) debe repetir los pasos del 1 al 4.

C.1) METODO A.

Procedimiento.

- 1) Tomar dos microlitros de sangre y depositarlos sobre el centro del reflector.
- 2) Colocar en la desecadora, unida a la bomba de

- vacío, y conectar el vacío para secar la muestra sobre el reflector. Esto hacerlo por dos minutos.
- 3) Calibrar el tubo de rayos X.
 - 4) Colocar el reflector en el sistema de reflexión total y medir por 1000 segundos utilizando las condiciones de 40 kV y 20 mA para el tubo de Molibdeno.
 - 5) Transferir del multicanal a la computadora y analizar el espectro utilizando el programa AXIL.

C.2) METODO B.

Reactivos.

- A) Mezcla digestora. Mezclar en relación 1:1. Acido perclórico al 70% y ácido nítrico concentrado.

Procedimiento.

- 1) En un erlenmeyer de 100 ml colocar 2 ml de sangre heparinizada. Agregar 4 ml de solución digestora.
- 2) En la misma forma se tratan un blanco y estándares de 1, 2 y 3 microlitros de plomo.
- 3) Se agregan tres perlas de ebullición y se calentaron a temperatura moderada (en la estufa Corning

- una escala de 3.5) por 25 minutos. La mezcla cambia de un color rojo oscuro a amarillo, o de rojo a incoloro.
- 4) Se deja enfriar a temperatura ambiente. Pueden aparecer unos pequeños grumos.
 - 5) Se agregan 5 ml de agua desionizada y 4 ml de solución de hidróxido de amonio gota a gota. Deben desaparecer los grumos.
 - 6) Se aforaron en balones de 50 mililitros.
 - 7) Se calibra el tubo de Rayos X.
 - 8) Se tomaron dos microlitros de muestra y se colocaron en el centro del reflector.
 - 9) Se coloca en la desecadora, unida a una bomba de vacío. Prender el vacío y secar por espacio de dos a tres minutos.
 - 10) Se coloca en el aparato de reflexión total y se mide por 1000 segundos, utilizando las condiciones: 40 Kv y 20 mA para el tubo de Molibdeno.
 - 11) Se transfiere al multicanal, luego a la computadora y se analiza el espectro empleando el programa AXIL.

C.3) METODO C.

a) Construcción de curva de calibración sanguínea.

PROCEDIMIENTO

- 1) De una bolsa de 500 ml de sangre, para transfusión con anticoagulante CPD, se extraen 5 mililitros de sangre. Se vierten en un tubo de ensayo limpio.
- 2) Se agregan 25 microlitros de solución patrón de Estroncio.
- 3) En la misma forma se trataron un blanco y estándares de plomo con 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1.0 ppm.
- 4) Se agitan en un baño ultrasónico por 25 minutos y luego en un vortex por 30 segundos.
- 5) Se calibra el tubo de Rayos X.
- 6) Se mide el blanco al reflector por 1000 segundos.
- 7) Se pipetea dos microlitros de muestra sobre el centro del reflector.
- 8) Se coloca en una desecadora, conectada a una bomba de vacío, donde se seca la muestra por un minuto.
- 9) Se coloca en el plasma asher por 25 minutos, utilizando las condiciones de vacío: menor a 30 milibares, agua de enfriamiento a una escala menor de 0.5 bar. y el oxígeno a una presión de 1.4 bar.

y un flujo de 2 a 3.

- 10) Se deja enfriar y se coloca en el aparato de reflexión total por espacio de 1000 segundos. Se utilizaron las condiciones de 40 Kv y 20 mA.
- 11) Se realizan dos lecturas por reflector preparado.
- 12) El reflector se limpia de acuerdo al procedimiento descrito anteriormente.
- 13) El análisis se desarrolla por triplicado.

b) Toma de muestras de pacientes.

Procedimiento

- 1) Se extrajeron 5 mililitros de sangre venosa, a cada paciente, por medio de jeringas esterilizadas desechables. Las muestras fueron vertidas en tubos de ensayo, previamente lavados con el procedimiento descrito, que contenían 150 microlitros de heparina (de 5000 unidades). Se procedió a agitarlos para provocar el inicio de la homogenización de la muestra e iniciar el proceso de hemólisis. Se le agregaron 25 microlitros de solución patrón estándar de Estroncio. Se agitaron por medio de un vórtex y luego fueron

colocadas en un baño ultrasónico durante veinticinco minutos.

c) ANALISIS DE MUESTRAS DE PACIENTES.

- 1) Calibrar el tubo de rayos X.
- 2) Medir el blanco al reflector limpio por un tiempo de 1000 segundos.
- 3) Agitar la sangre utilizando primero un vórtex por 30 segundos, una baño ultrasónico por 15 minutos y luego otra vez el vórtex por treinta segundos.
- 4) Utilizando una micropipeta extraer dos microlitros de sangre.
- 5) Vertirlas sobre el centro del reflector.
- 6) Se coloca en una desecadora, que está conectada a la bomba de vacío, durante dos minutos para secar.
- 7) Se coloca en el plasma asher durante 25 minutos.
La muestra se torna en un color beige claro.
- 8) Se coloca en el aparato de Reflexión total de Rayos X y se mide durante un tiempo efectivo de 1000 segundos. Utilizando las condiciones 40 Kv y 20 mA para el tubo de Molibdeno. Se realiza por duplicado el análisis para cada reflector.
- 9) Se transfieren los espectros a la computadora y se analizan por medio del programa AXIL.

10) El análisis se lleva a cabo por triplicado.

d) CONSTRUCCION DE LA CURVA DE CALIBRACION ACUOSA.

1) En balones aforados limpios se procede a preparar soluciones Plomo-Estroncio de acuerdo a la siguiente tabla:

Solución	Plomo (ppm)	Estroncio (ppm)
1	0.1	5.0
2	0.2	5.0
3	0.4	5.0
4	0.6	5.0
5	0.8	5.0
6	1.0	5.0
7	---	5.0

- 2) Se aforaron a 50 mililitros con agua desionizada.
- 3) Se calibró el tubo de rayos X.
- 4) Se midió el blanco al reflector a emplear durante un tiempo de 500 segundos.
- 5) Se depositaron en el centro del reflector, utili-

zando una micropipeta, dos microlitros de muestra.

- 6) Se colocaron en una desecadora, conectada a una bomba de vacío por espacio de dos minutos.
- 7) Se colocaron en el aparato de reflexión total y se midieron por 1000 segundos. Las condiciones empleadas fueron 40 Kv y 20 mA. Se realizaron dos mediciones por reflector.
- 8) Las mediciones se realizaron por triplicado.

e) ANALISIS DE LA SOLUCION DE ESTRONCIO Y ANTICOAGULANTES.

a) Estroncio.

- 1) Se mide el blanco a un reflector.
- 2) En un reflector limpio se colocaron dos microlitros de la solución de Estroncio.
- 3) Se coloca en la desecadora, unida a la bomba de vacío para secar.
- 4) Se coloca en el aparato de reflexión total de rayos X por un tiempo de 1000 segundos.
- 5) Se transfiere el espectro a la computadora y se analizó.

b) Anticoagulantes:

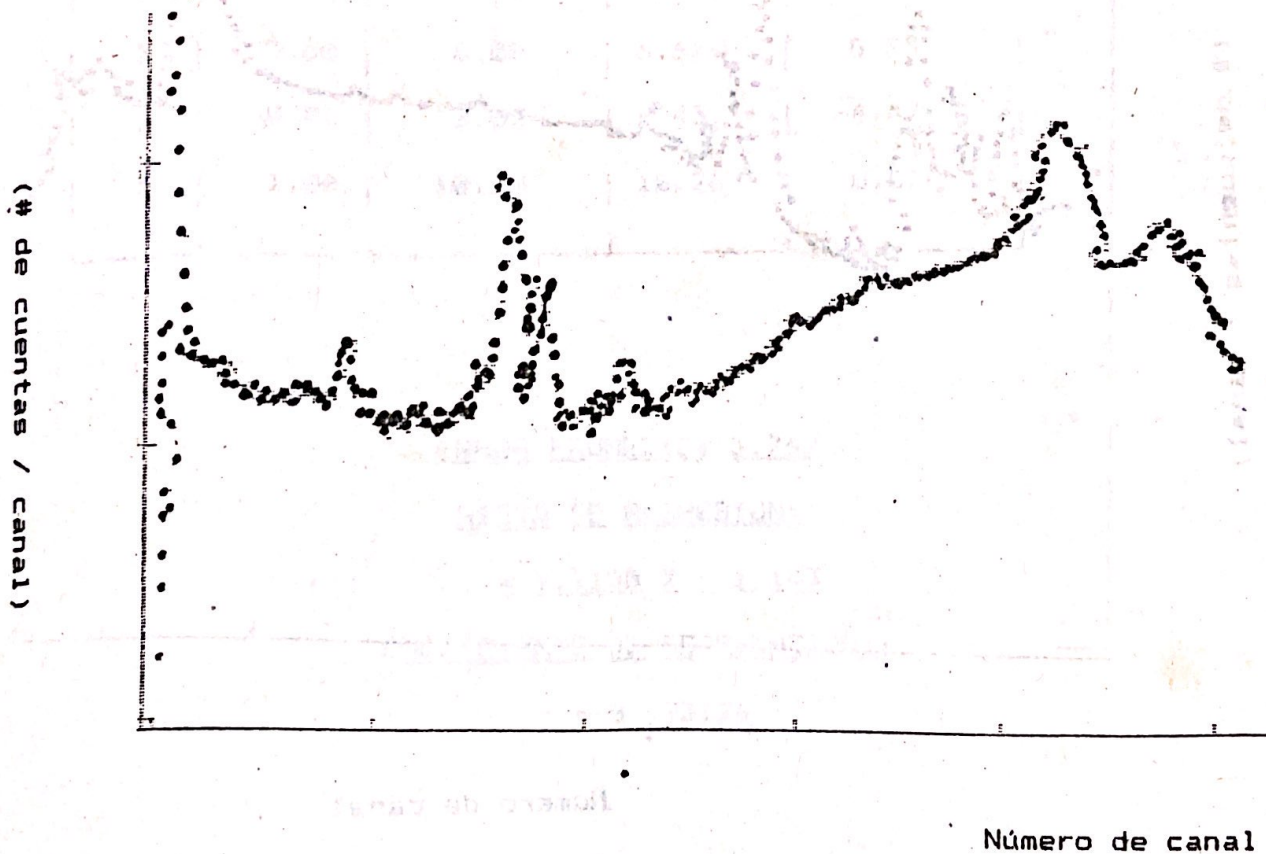
- 1) Se mide el blanco a un reflector durante 1000 segundos.
- 2) Se coloca en tubo de ensayo limpio, 100 microlitros de heparina y 5 microlitros de solución de Estroncio. Se agitan utilizando un vórtex (por treinta segundos) y una baño ultrasónico por de 15 minutos.
- 3) Utilizando una micropipeta, vertir dos microlitros de muestra en el centro del reflector.
- 4) Se colocan en la desecadora, unida a una bomba de vacío, y se secan por dos minutos.
- 5) Se colocan en el plasma asher por 45 minutos.
- 6) Se deja enfriar y se coloca en el aparato de reflexión total por 1000 segundos.
- 7) Se transfieren los espectros y se analizan utilizando el programa AXIL.

IV RESULTADOS.

A) METODO A.

Un ejemplo de un resultado obtenido se muestra en el ESPECTRO 1. El plomo no puede ser detectado.

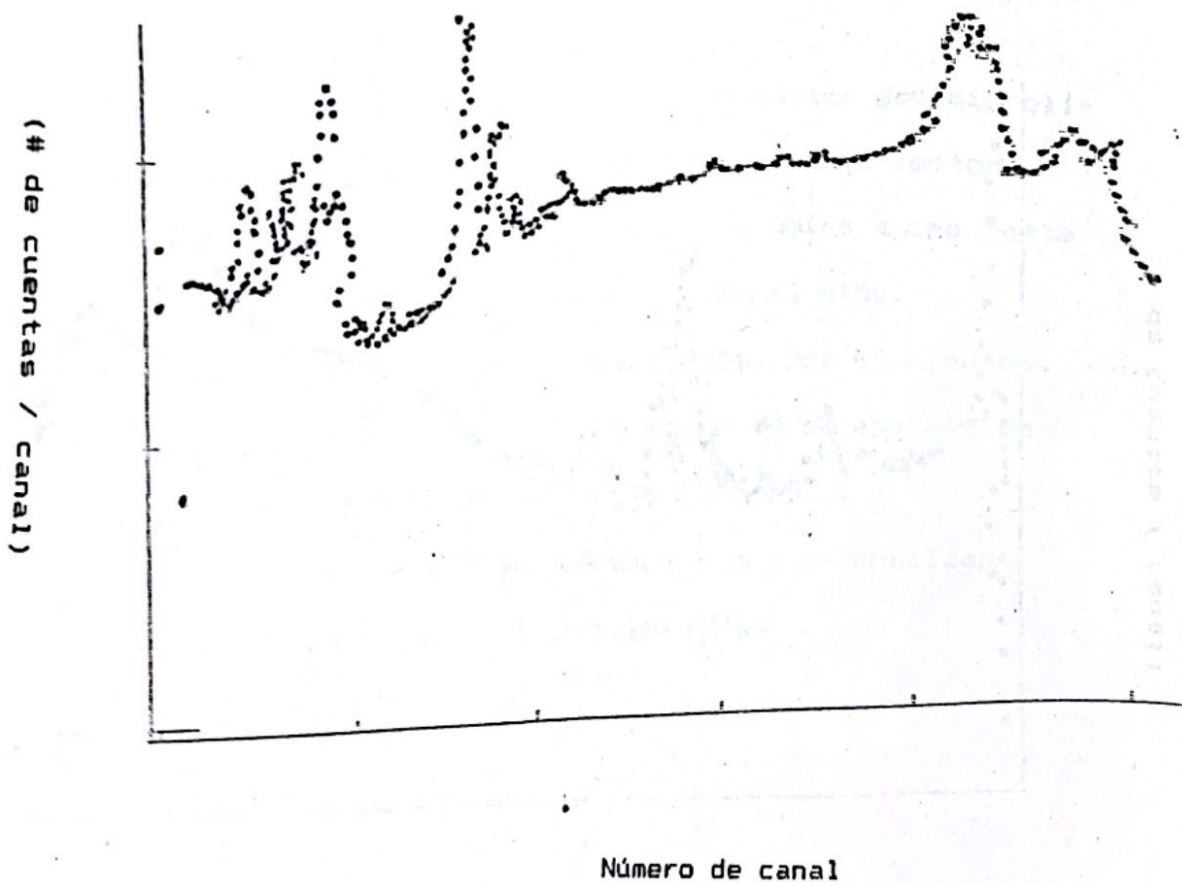
Espectro # 1: Procedimiento A.



B). METODO B.

Un ejemplo de un resultado obtenido se muestra en el ESPECTRO 2. El plomo no puede ser detectado.

Espectro # 2: Procedimiento B.



C) METODO C.

1) Construcción de la curva de calibración sanguínea.

((Ipb/Isr)*100 vrs ppm de Pb)

#	X	Y	YFIT	%DIF
Promedio de seis determinaciones				
1	0.20	3.05	2.97	-2.75
2	0.40	4.90	4.79	-2.27
3	0.60	6.08	6.61	8.75
4	0.80	8.83	8.43	-4.47
5	1.00	10.20	10.26	0.57

ERROR PROMEDIO: 3.762

RECTA DE REGRESION:

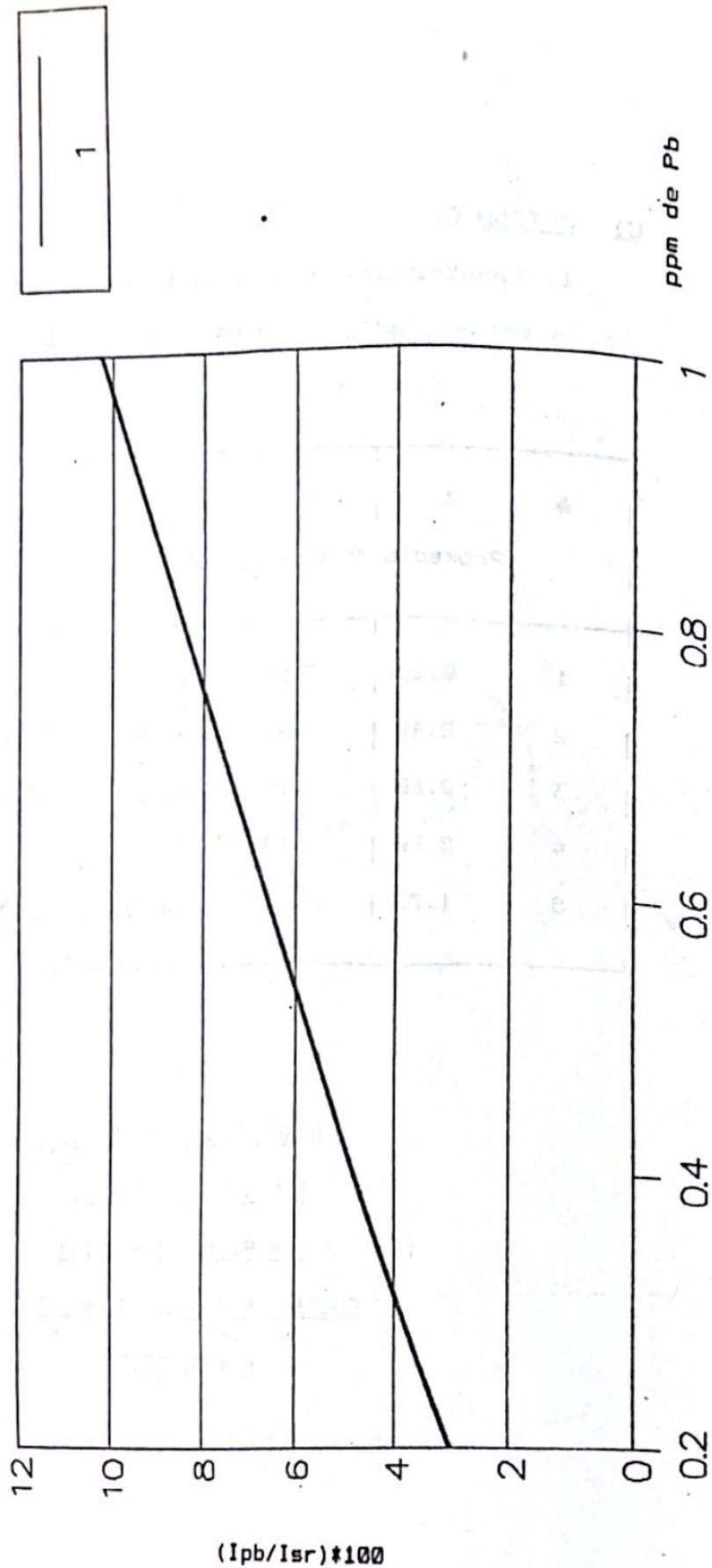
(1) $Y = 9.1150 X + 1.143$

COEFICIENTE DE CORRELACION:

$r = 0.993124$

GRAFICA # 1: $(I_{pb}/I_{sr}) * 100$ vrs ppm Pb⁴⁸

CURVA SANGUINEA



Cálculos:

Para calcular el valor de concentración del plomo (ppm del eje X) utilizamos la recta de regresión, así:

$$y = 9.115 X + 1.143$$

$$(2) \quad \frac{((Ipb/Isr)*100) - 1.143}{9.115} = \text{ppm de Pb}$$

Observaciones: si el cálculo de ppm de Pb es negativo o menor a 0.09 indica que está por debajo del límite mínimo de determinación del aparato y se reporta el valor de 0.09 ppm.

Se utiliza un factor de corrección basado en:

$$(3) \quad \text{Factor} = \frac{\text{peso de sangre} + \text{heparina} + \text{estroncio}}{\text{peso de sangre}}$$

$$(4) \quad \text{ppm de Pb} = (\text{Conc. Pb}) * \text{Factor}$$

Ejemplo: Paciente # 7 (repetición # 2)

$$Ipb = 489, \quad Isr = 11144, \quad (Ipb/Isr)*100 = 4.3882$$

$$\text{utilizando (2), } x = 0.3560$$

Factor= 1.06041

utilizando (4), $\bar{X} \equiv \underline{0.3775 \text{ ppm de Pb}}$

Observaciones: El Ipb e Isr fueron obtenidos luego de restar el fondo del blanco medido.

Los valores tabulados se presentan en la

TABLA DE RESULTADOS 1

Pacientes del 1 al 6: no expuestos.

Pacientes del 7 al 12: ocupacionalmente expuestos
(fabricantes de acumuladores)

CONCENTRACION DE PLOMO EN SANGRE TOTAL EN
PERSONAS NO EXPUESTAS Y OCUPACIONALMENTE EXPUESTAS

Pa- cien te	Area Pb	Area Sr	Razón (Pb/Sr)*100	Conc. Pb	Factor	Concen- tración ppm
1	0	16632	0	-0.2092	1.08167	0.09
1	0	16626	0	-0.2382	1.08167	0.09
1	0	15639	0	-0.1970	1.08167	0.09
1	0	16714	0	-0.2166	1.08167	0.09
1	0	16810	0	-0.5176	1.08167	0.09
1	0	16930	0	-0.4617	1.08167	0.09
2	0	13738	0	-0.3250	1.07730	0.09
2	0	14047	0	-0.1324	1.07730	0.09
2	0	11588	0	-0.0544	1.07330	0.09
2	0	11646	0	-0.1734	1.07330	0.09
2	64	11713	0.5464	-0.0655	1.07330	0.09
2	162	11777	1.3755	0.0255	1.07330	0.09
3	0	10426	0	-0.3095	1.06919	0.09
3	0	10177	0	-0.2062	1.06919	0.09
3	0	9531	0	-0.1645	1.06919	0.09
3	208	13751	1.5126	0.0406	1.06919	0.09
3	325	13833	2.3494	0.1324	1.06919	0.1415
3	11	9507	0.1157	-0.1127	1.06919	0.09

Pa- cien te	Area Pb	Area Sr	Razón (Pb/Sr)*100	Conc. Pb	Factor	Concen- tración ppm
4	0	13240	0	-0.2605	1.06290	0.09
4	0	13256	0	-0.2487	1.06290	0.09
4	119	8744	1.3609	0.0239	1.06290	0.09
4	2	8707	0.0230	-0.1229	1.06290	0.09
4	36	12044	0.2989	-0.0926	1.06290	0.09
4	113	12129	0.9317	-0.0232	1.06290	0.09
5	159	9389	1.6935	0.0604	1.07064	0.09
5	225	9376	2.3998	0.1379	1.07064	0.1476
5	125	7434	1.6815	0.0591	1.07064	0.09
5	143	7365	1.9417	0.0876	1.07064	0.0938
5	176	11124	1.5822	0.0482	1.07064	0.09
5	136	11204	1.2138	0.0078	1.07064	0.09
6	267	6548	4.0778	0.3220	1.06990	0.3447
6	506	8573	5.9026	0.5222	1.06990	0.5589
6	124	8497	1.4593	0.0347	1.06990	0.09
6	371	7488	4.9549	0.4182	1.06990	0.4476
6	447	7502	5.9586	0.5283	1.06990	0.5655
6	241	6627	3.6368	0.2736	1.06990	0.2929
7	125	11166	1.1195	-0.0026	1.06041	0.09

Pa- cien te	Area Pb	Area Sr	Razón (Pb/Sr) *100	Conc. Pb	Factor	Concen- tración ppm
7	489	11144	4.3882	0.3560	1.0641	0.3775
7	495	9050	5.4683	0.4746	1.06041	0.5033
7	350	8729	4.0095	0.3145	1.06041	0.3335
7	340	11265	3.0183	0.2057	1.06041	0.2182
7	411	11240	3.6566	0.2758	1.06041	0.2924
8	397	12449	3.1890	0.2245	1.0589	0.2377
8	391	11929	3.2777	0.2342	1.05893	0.2480
8	400	10318	3.8766	0.2999	1.05893	0.3176
8	734	10275	7.1434	0.6583	1.05893	0.6971
8	712	21876	3.2682	0.2332	1.05893	0.2469
8	884	21776	4.0595	0.3200	1.05893	0.3388
9	309	8791	3.5151	0.2602	1.05932	0.2757
9	375	8792	4.2651	0.3425	1.05932	0.3628
9	163	7440	2.1908	0.1149	1.05932	0.1218
9	92	7278	1.2641	0.0133	1.05932	0.09
9	265	5663	4.6798	0.3880	1.05932	0.4110
9	136	5691	2.3899	0.1368	1.05932	0.1449
10	713	9038	7.8888	0.7401	1.06258	0.7864
10	699	8971	7.7916	0.7294	1.06258	0.7751
10	348	5992	5.8074	0.5117	1.06258	0.5437
10	391	5972	6.5468	0.5928	1.06258	0.6299

Pa- cien- te	Area Pb	Area Sr	Razón (Pb/Sr) *100	Conc. Pb	Factor	Concen- tración ppm
<u>10</u>	<u>0</u>	<u>6107</u>	<u>0</u>	<u>-0.1380</u>	<u>1.06258</u>	<u>0.09</u>
<u>10</u>	<u>0</u>	<u>6019</u>	<u>0</u>	<u>-0.2329</u>	<u>1.06258</u>	<u>0.09</u>
<u>11</u>	<u>365</u>	<u>11184</u>	<u>2.9955</u>	<u>0.2032</u>	<u>1.07368</u>	<u>0.2182</u>
<u>11</u>	<u>267</u>	<u>11185</u>	<u>2.3872</u>	<u>0.1365</u>	<u>1.07368</u>	<u>0.1466</u>
<u>11</u>	<u>834</u>	<u>13093</u>	<u>6.3696</u>	<u>0.5734</u>	<u>1.07368</u>	<u>0.6157</u>
<u>11</u>	<u>765</u>	<u>13114</u>	<u>5.8377</u>	<u>0.5146</u>	<u>1.07368</u>	<u>0.5525</u>
<u>11</u>	<u>815</u>	<u>10953</u>	<u>7.4409</u>	<u>0.6909</u>	<u>1.07368</u>	<u>0.7418</u>
<u>11</u>	<u>526</u>	<u>10936</u>	<u>4.8097</u>	<u>0.4023</u>	<u>1.07368</u>	<u>0.4319</u>
<u>12</u>	<u>688</u>	<u>15484</u>	<u>4.4434</u>	<u>0.3621</u>	<u>1.06312</u>	<u>0.3850</u>
<u>12</u>	<u>576</u>	<u>15426</u>	<u>3.7341</u>	<u>0.2843</u>	<u>1.06312</u>	<u>0.3022</u>
<u>12</u>	<u>593</u>	<u>9843</u>	<u>6.0249</u>	<u>0.5356</u>	<u>1.06312</u>	<u>0.5694</u>
<u>12</u>	<u>543</u>	<u>9711</u>	<u>5.5914</u>	<u>0.4880</u>	<u>1.06312</u>	<u>0.5189</u>
<u>12</u>	<u>697</u>	<u>10710</u>	<u>6.5080</u>	<u>0.5886</u>	<u>1.06312</u>	<u>0.6258</u>
<u>12</u>	<u>602</u>	<u>10630</u>	<u>5.6631</u>	<u>0.4959</u>	<u>1.06312</u>	<u>0.5272</u>

2) Construcción de la curva de calibración acuosa.

((Ipb/Isr)*100 vrs ppm de Pb)

#	X	Y	YFIT	%DIF
	Promedio de seis determinaciones			
1	0.10	1.20	1.14	-4.61
2	0.20	1.90	1.82	-3.95
3	0.60	4.22	4.55	7.73
4	0.80	6.01	5.91	-1.72
5	1.00	7.36	7.27	-1.26

ERROR PROMEDIO: 3.853

RECTA DE REGRESION:

$$(5) \quad Y = 6.80304 X + 0.464358$$

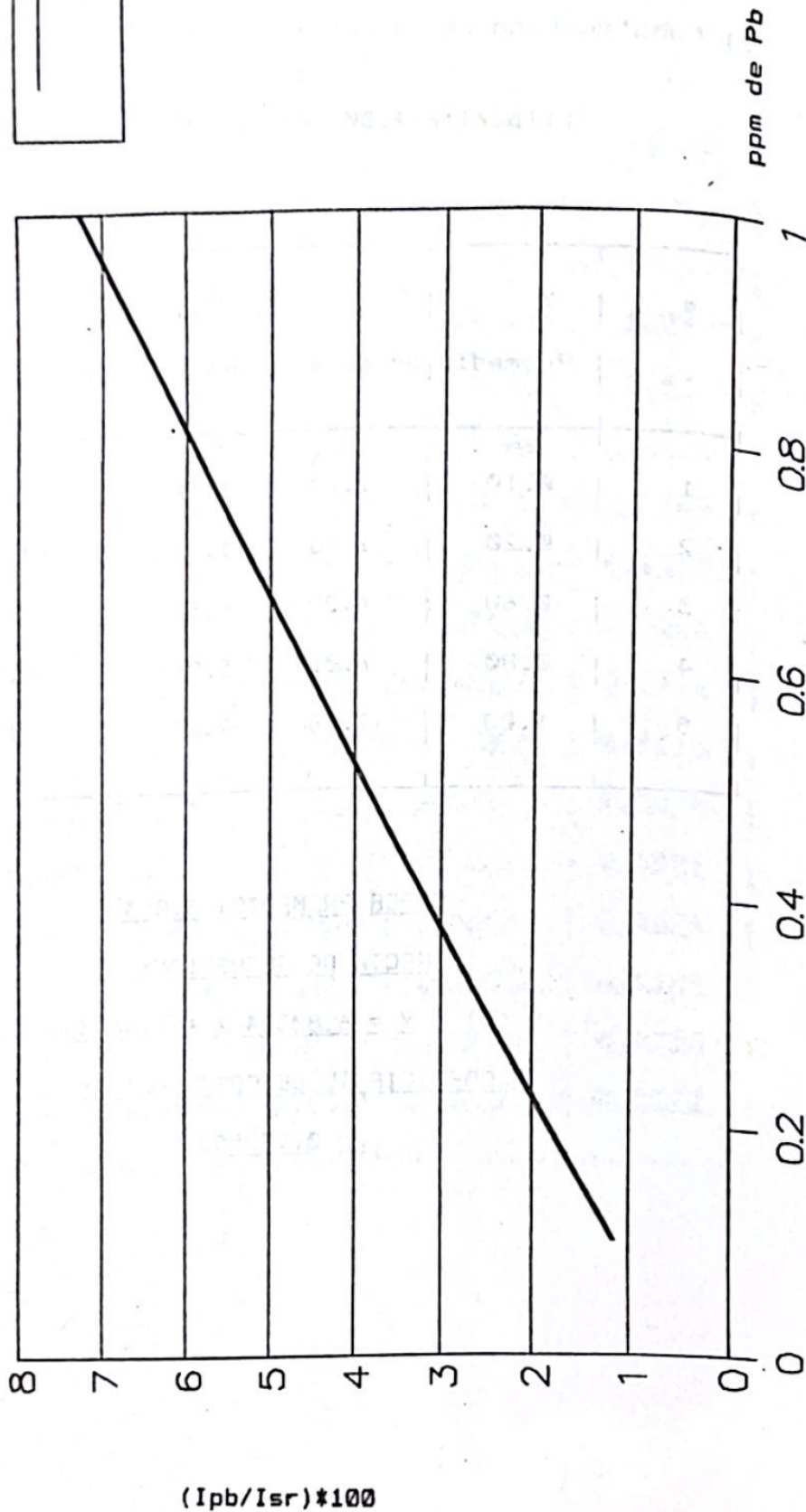
COEFICIENTE DE CORRELACION:

$$r = 0.997558$$

GRAFICA # 2: $(I_{pb}/I_{sr}) * 100$ vrs ppm Pb

56

CURVA ACUOSA



Cálculos:

Para calcular el valor de concentración del plomo (ppm del eje X) utilizamos la recta de regresión, así:

$$y = 6.80304 X + 0.464358$$

así:

$$(6) \quad \frac{((Ipb/Isr)*100) - 0.464358}{6.80304} = \text{ppm de Pb}$$

Observaciones: si el cálculo de ppm de Pb es negativo o menor que 0.09 indica que está por debajo del límite mínimo de determinación y se reporta el valor de 0.09 ppm.

Se utiliza un factor de corrección basado en la fórmula (3) y para calcular el las PPM DE PB reportadas se utiliza nuevamente la fórmula (4).

Ejemplo: Paciente # 7 (repetición # 2)

$$Ipb = 489, \quad Isr = 11144, \quad (Ipb/Isr)*100 = 4.3882$$

Factor: 1.06041,

utilizando (5), $x = 0.5768$

al utilizar (4) $\bar{X} = 0.6116$ ppm de Pb

Observaciones el Ipb e Isr fueron obtenidos luego de restar el blanco medido.

Los valores tabulados se presentan en la

TABLA DE RESULTADOS # 2

Pacientes del 1 al 6: ocupacionalmente no expuestos

Pacientes de; 7 al 12: ocupacionalmente expuestos.

(fabricantes de acumuladores).

CONCENTRACION DE PLOMO EN SANGRE TOTAL EN
PERSONAS NO EXPUESTAS Y OCUPACIONALMENTE EXPUESTAS

Pa- cien te	Area Pb	Area Sr	Razón (Pb/Sr)*100	Conc. Pb	Factor	Concen- tración ppm
1	0	16632	0	-0.1805	1.08167	0.09
1	0	16626	0	-0.2194	1.08167	0.09
1	0	15639	0	-0.1641	1.08167	0.09
1	0	16714	0	-0.1905	1.08167	0.09
1	0	16810	0	-0.5938	1.08167	0.09
1	0	16930	0	-0.5189	1.08167	0.09
2	0	13738	0	-0.3358	1.07730	0.09
2	0	14047	0	-0.0777	1.07730	0.09
2	0	11588	0.6472	0.0269	1.07330	0.09
2	0	11646	0	-0.1326	1.07330	0.09
2	64	11713	0.5464	0.0121	1.07330	0.09
2	162	11777	1.3755	0.1339	1.07330	0.09
3	0	10426	0	-0.3150	1.06919	0.09
3	0	10177	0	-0.1766	1.06919	0.09
3	0	9531	0	-0.0512	1.06919	0.09
3	208	13751	1.5126	-0.1207	1.06919	0.09
3	325	13833	2.3494	0.1541	1.06919	0.1647
3	11	9507	0.1157	0.2771	1.06919	0.2963

Pa- cien te	Area Pb	Area Sr	Razón (Pb/Sr)*100	Conc. Pb	Factor	Concen- tración ppm
4	0	13240	0	-0.2492	1.06290	0.09
4	0	13256	0	-0.2335	1.06290	0.09
4	119	8744	1.3609	0.1318	1.06290	0.1401
4	2	8707	0.0230	-0.0649	1.06290	0.09
4	36	12044	0.2989	-0.0243	1.06290	0.09
4	113	12129	0.9317	-0.0232	1.06290	0.09
5	159	9389	1.6935	0.1807	1.07064	0.1934
5	225	9376	2.3998	0.2845	1.07064	0.3046
5	125	7434	1.6815	0.1789	1.07064	0.1916
5	143	7365	1.9417	0.2172	1.07064	0.2325
5	176	11124	1.5822	0.1643	1.07064	0.1759
5	136	11204	1.2138	0.1102	1.07064	0.1179
6	267	6548	4.0778	0.5312	1.06990	0.5686
6	506	8573	5.9026	0.7994	1.06990	0.8557
6	124	8497	1.4593	0.1463	1.06990	0.1565
6	371	7488	4.9549	0.6601	1.06990	0.7066
6	447	7502	5.9586	0.8076	1.06990	0.8645
6	241	6627	3.6368	0.4663	1.06990	0.4992
7	125	11166	1.1195	0.0963	1.06041	0.1021

Pa- cien te	Area Pb	Area Sr	Razón (Pb/Sr) *100	Conc. Pb	Factor	Concen- tración ppm
Z	489	11144	4.3882	0.5768	1.0641	0.6116
Z	495	9050	5.4683	0.7357	1.06041	0.7801
Z	350	8729	4.0095	0.5211	1.06041	0.5526
Z	340	11265	3.0183	0.3754	1.06041	0.3981
Z	411	11240	3.6566	0.4692	1.06041	0.4976
8	397	12449	3.1890	0.4005	1.0589	0.4241
8	391	11929	3.2777	0.4135	1.05893	0.4379
8	400	10318	3.8766	0.5016	1.05893	0.5311
8	734	10275	7.1434	0.9818	1.05893	1.0396
8	712	21876	3.2682	0.4121	1.05893	0.4364
8	884	21776	4.0595	0.5285	1.05893	0.5596
9	309	8791	3.5151	0.4484	1.05932	0.4750
9	375	8792	4.2651	0.5587	1.05932	0.5918
9	163	7440	2.1908	0.2538	1.05932	0.2688
9	92	7278	1.2641	0.1176	1.05932	0.1245
9	265	5663	4.6798	0.6196	1.05932	0.6564
9	136	5691	2.3899	0.2830	1.05932	0.2998
10	713	9038	7.8888	1.0913	1.06258	1.1596
10	699	8971	7.7916	1.0771	1.06258	1.1445
10	348	5992	5.8074	0.7854	1.06258	0.8345
10	391	5972	6.5468	0.8941	1.06258	0.9500

Pa- cien- te	Area Pb	Area Sr	Razón (Pb/Sr) *100	Conc. Pb	Factor	Concen- tración ppm
<u>10</u>	<u>0</u>	<u>6107</u>	<u>0</u>	<u>-0.0851</u>	<u>1.06258</u>	<u>0.09</u>
<u>10</u>	<u>0</u>	<u>6019</u>	<u>0</u>	<u>-0.2123</u>	<u>1.06258</u>	<u>0.09</u>
<u>11</u>	<u>365</u>	<u>11184</u>	<u>2.9955</u>	<u>0.3721</u>	<u>1.07368</u>	<u>0.3995</u>
<u>11</u>	<u>267</u>	<u>11185</u>	<u>2.3872</u>	<u>0.2826</u>	<u>1.07368</u>	<u>0.3035</u>
<u>11</u>	<u>834</u>	<u>13093</u>	<u>6.3696</u>	<u>0.8680</u>	<u>1.07368</u>	<u>0.9320</u>
<u>11</u>	<u>765</u>	<u>13114</u>	<u>5.8377</u>	<u>0.7893</u>	<u>1.07368</u>	<u>0.8474</u>
<u>11</u>	<u>815</u>	<u>10953</u>	<u>7.4409</u>	<u>1.0255</u>	<u>1.07368</u>	<u>1.1011</u>
<u>11</u>	<u>526</u>	<u>10936</u>	<u>4.8097</u>	<u>0.6387</u>	<u>1.07368</u>	<u>0.6858</u>
<u>12</u>	<u>688</u>	<u>15484</u>	<u>4.4434</u>	<u>0.5849</u>	<u>1.06312</u>	<u>0.6218</u>
<u>12</u>	<u>576</u>	<u>15426</u>	<u>3.7341</u>	<u>0.4806</u>	<u>1.06312</u>	<u>0.5110</u>
<u>12</u>	<u>593</u>	<u>9843</u>	<u>6.0249</u>	<u>0.8174</u>	<u>1.06312</u>	<u>0.8690</u>
<u>12</u>	<u>543</u>	<u>9711</u>	<u>5.5914</u>	<u>0.7536</u>	<u>1.06312</u>	<u>0.8012</u>
<u>12</u>	<u>697</u>	<u>10710</u>	<u>6.5080</u>	<u>0.8884</u>	<u>1.06312</u>	<u>0.9445</u>
<u>12</u>	<u>602</u>	<u>10630</u>	<u>5.6631</u>	<u>0.7642</u>	<u>1.06312</u>	<u>0.8125</u>

Los datos obtenidos, para cada paciente, en las Tablas 1 y 2, son sometidos al tratamiento de Criterio Q para ver si alguno de ellos es rechazado.

Una vez verificado esto se calcula el promedio para cada paciente y su respectivo coeficiente de variación.

Los valores obtenidos se reportan en las Tablas 3 y 4. En la Tabla 5 se presenta una comparación entre las concentraciones obtenidas por medio de la curva sanguínea y la curva acuosa. Se establece el porcentaje de diferencia existente, considerando al valor obtenido por medio de la curva sanguínea como el valor real.

Los espectros 3 y 4 muestran dos espectros de pacientes procesados. El primero corresponde a un paciente no expuesto y el segundo a un paciente ocupacionalmente expuesto. El espectro 5 representa el blanco de un reflector.

Con los datos de las tablas 3, 4 y 5 se construyen las respectivas gráficas de barras 1, 2 y 3 que permiten intercomparar los valores promedio obtenidos para cada paciente.

Las tablas 6 y 7 representan otros elementos detectados simultáneamente en el análisis. Se presenta la relación entre el elemento detectado y el Estroncio.

TABLA DE RESULTADOS 3

<u>Concentración promedio de plomo, según curva sanguínea</u>		
(promedio de seis determinaciones)		
Paciente #	ppm de Pb/gr	coeficiente de variación
1	< 0.09	0.0
2	< 0.09	0.0
3	0.0986	20.3
4	< 0.09	0.0
5	0.1002	20.0
6	0.3025	46.3
7	0.3477	51.8
8	0.2778	14.4
9	0.2343	55.5
10	0.6838	17.5
11	0.4511	51.0
12	0.4881	24.6

Coeficiente de variación promedio: 30.1

GRAFICA # 3: PACIENTE vrs ppm de Pb
 Numero 1-6 No expuestos, 7-12 expuestos

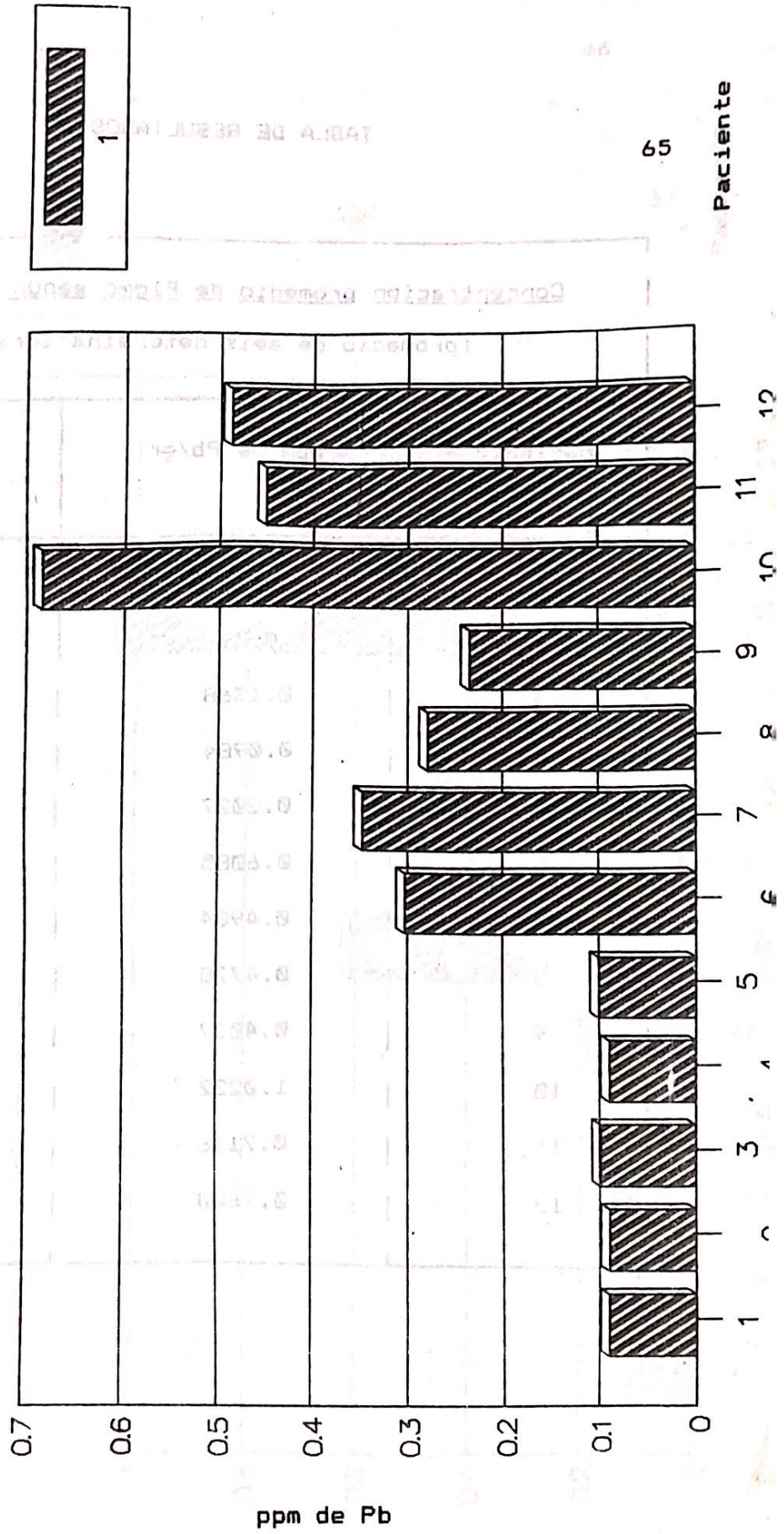


TABLA DE RESULTADOS 4

<u>Concentracion promedio de Plomo según curva acuosa</u> (promedio de seis determinaciones)		
Paciente #	ppm de Pb/gr	coeficiente de variación
1	< 0.09	0.0
2	< 0.09	0.0
3	0.1368	58.5
4	0.0984	20.3
5	0.2027	29.6
6	0.6085	44.4
7	0.4904	46.9
8	0.4778	12.6
9	0.4027	52.2
10	1.0222	15.6
11	0.7116	44.6
12	0.7600	21.0

GRAFICA # 4: PACIENTE vrs ppm de Pb

Numero 1-6 No expuestos, 7-12 expuestos

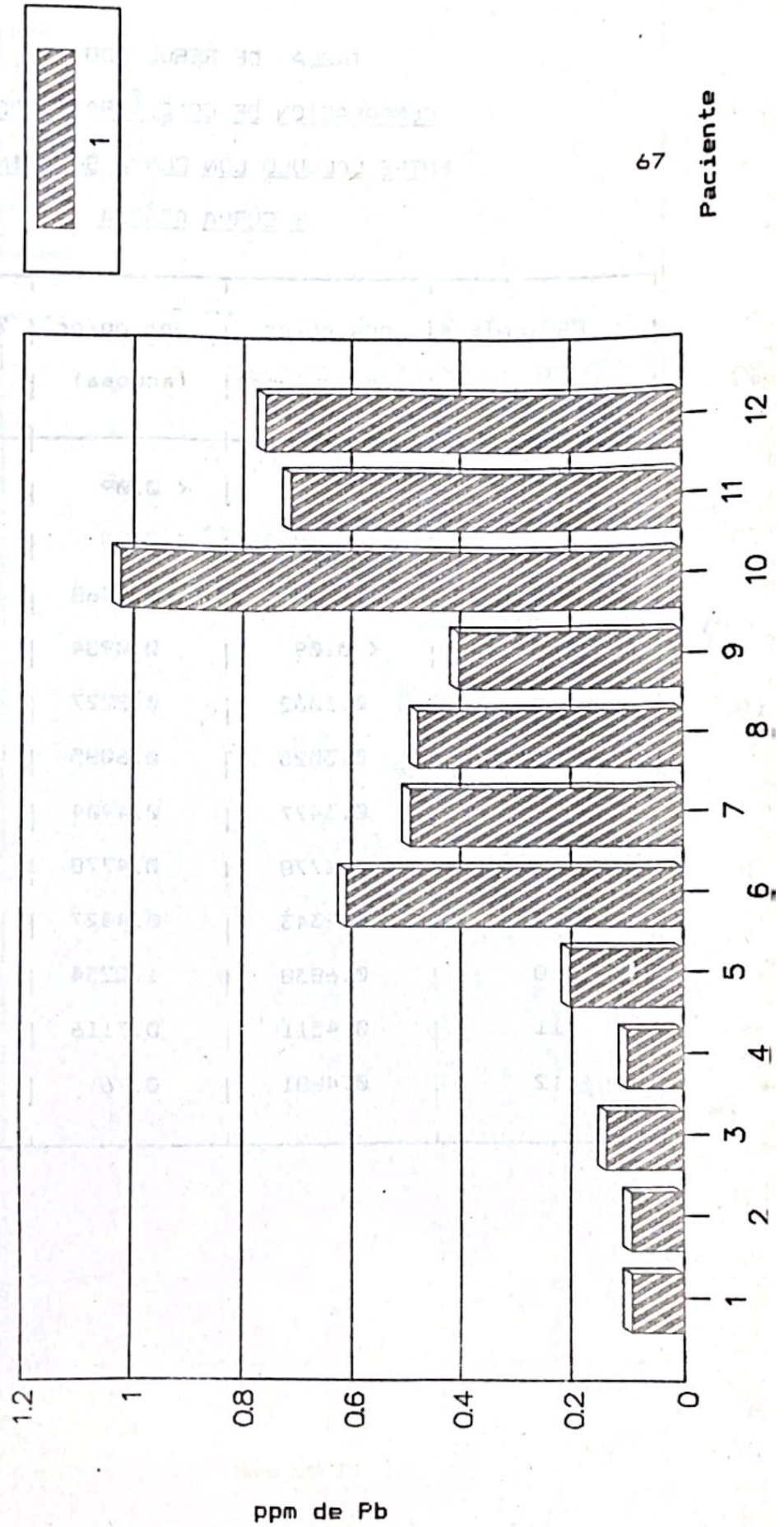
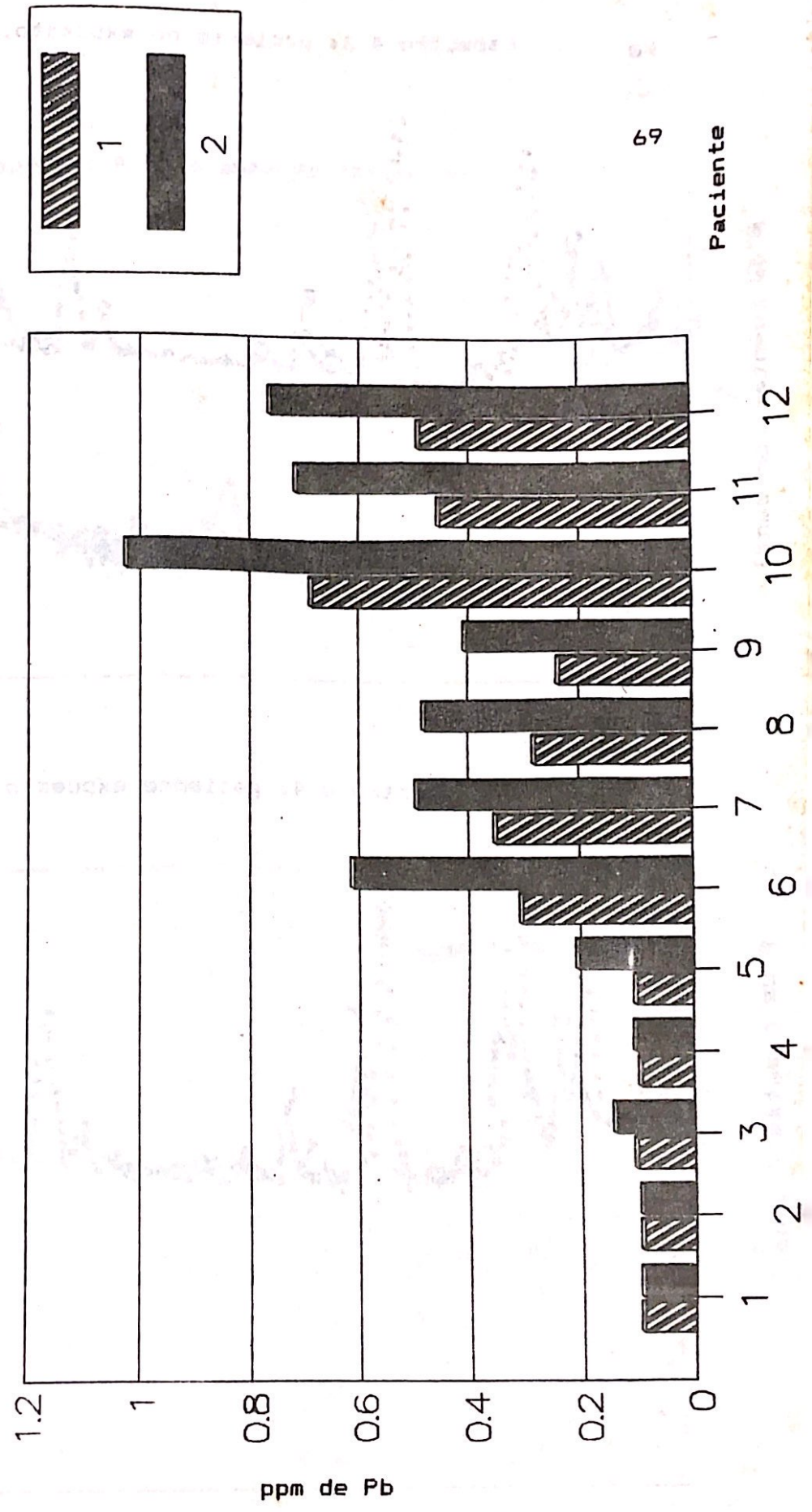


TABLA DE RESULTADOS 5
COMPARACION DE CONCENTRACIONES
ENTRE CALCULO CON CURVA SANGUINEA
Y CURVA ACUOSA

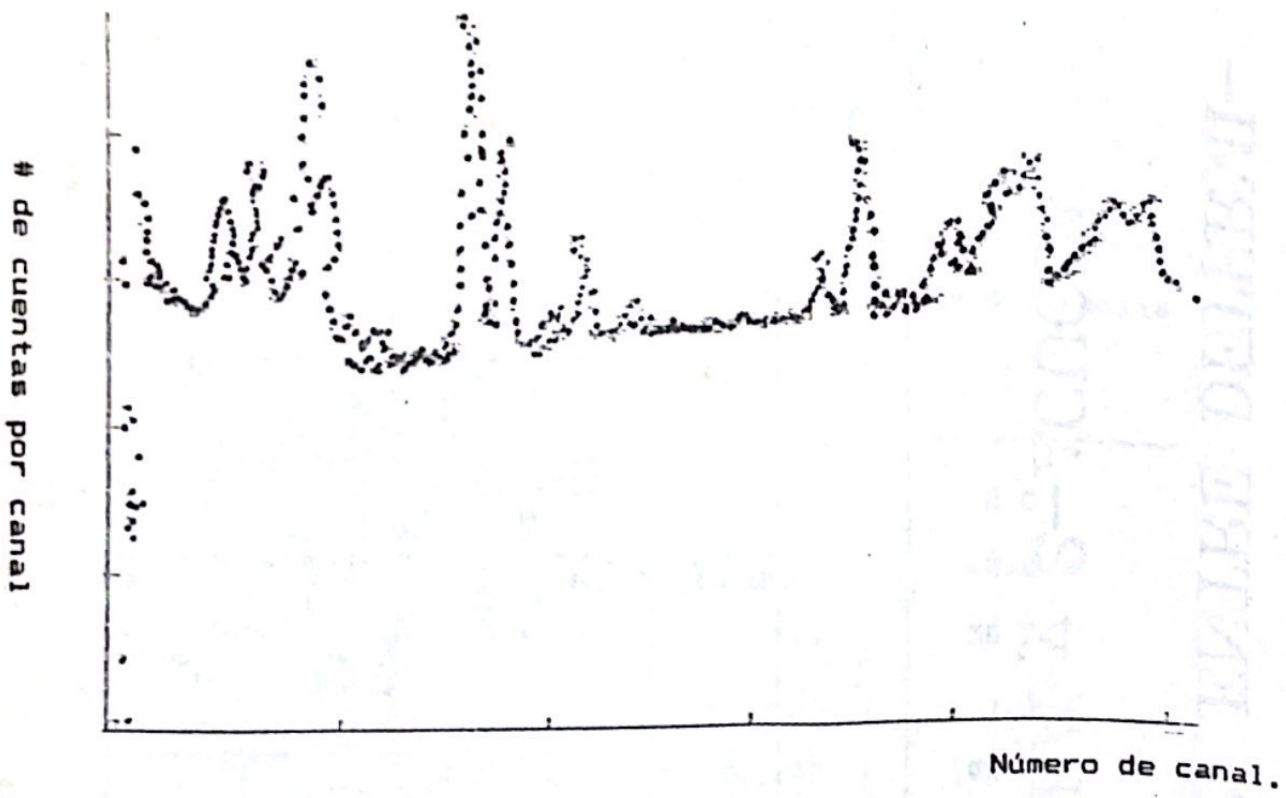
PACIENTE #	ppm pb/gr (sanguinea)	ppm pb/gr (acuosa)	% de diferencia
1	< 0.09	< 0.09	0.0
2	< 0.09	< 0.09	0.0
3	0.0986	0.1368	38.7
4	< 0.09	0.0984	9.3
5	0.1002	0.2027	102.3
6	0.3025	0.6085	101.2
7	0.3477	0.4904	41.0
8	0.2778	0.4778	72.0
9	0.2343	0.4027	71.9
10	0.6838	1.0234	50.0
11	0.4511	0.7116	57.7
12	0.4881	0.76	55.7

GRAFICA # 5 :COMPARACION ENTRE DETERMI-

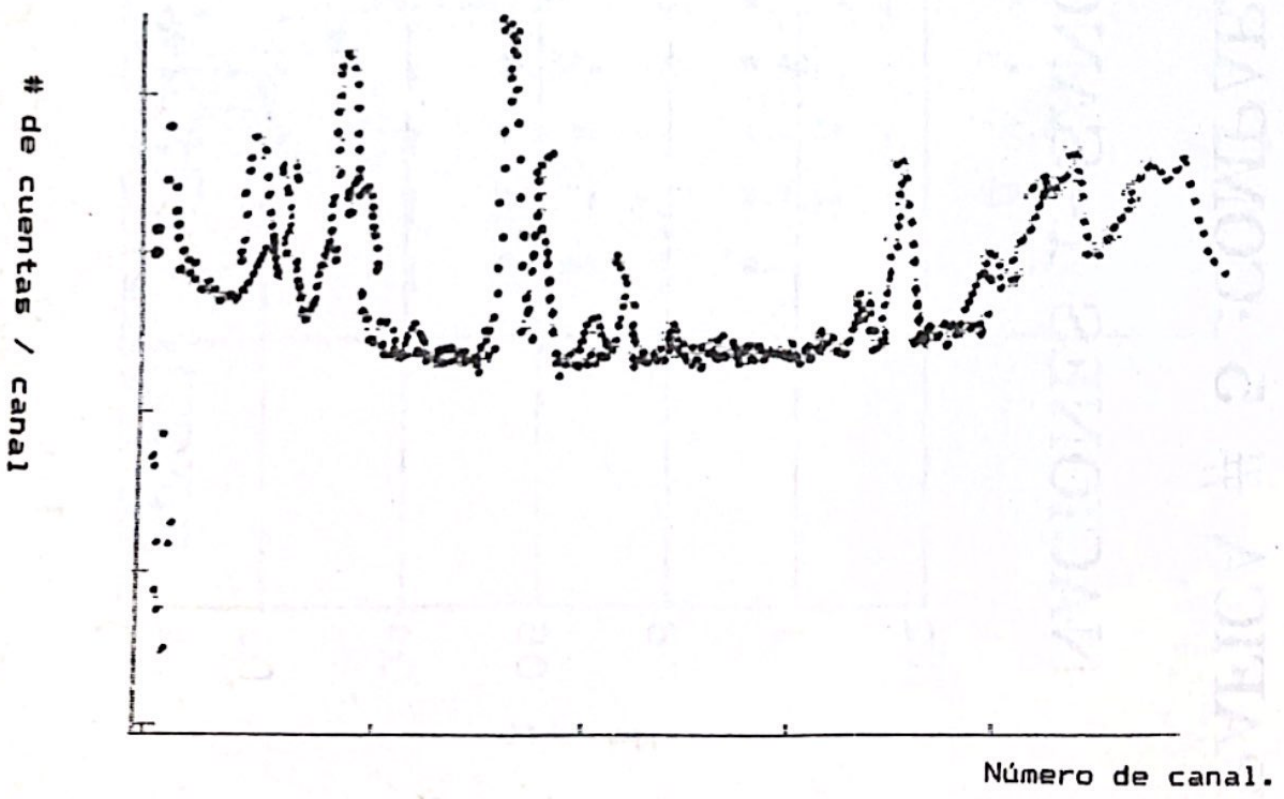
NACIONES 1-SANGUINEA y 2-ACUOSA



Espectro # 3: paciente no expuesto.



Espectro # 4: paciente expuesto.



Espectro # 5: blanco de reflector.

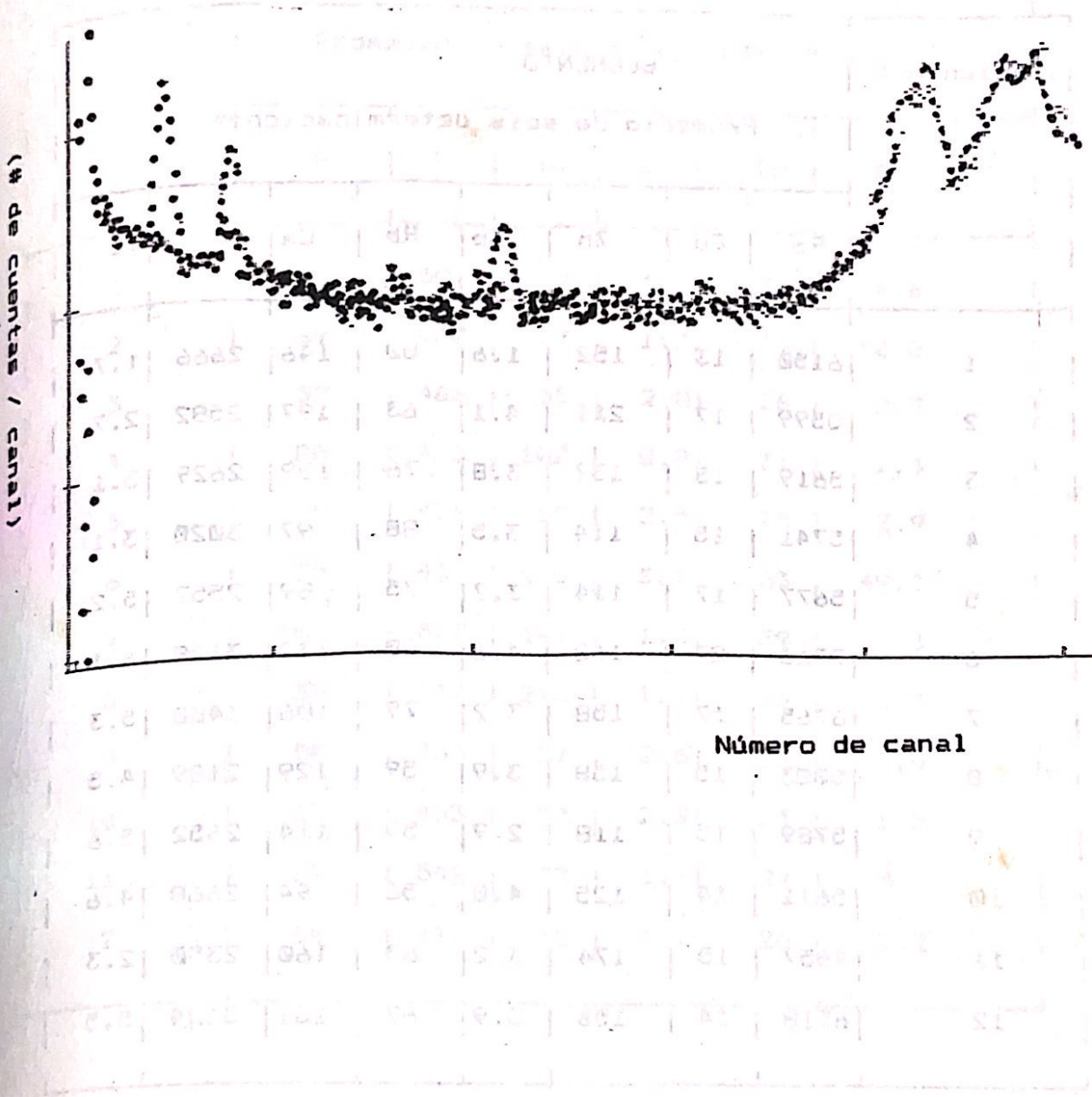


TABLA DE RESULTADOS 6

RAZON (Ie/Isr)*100 de otros elementos detectados

Paciente #	ELEMENTO							
	Promedio de seis determinaciones							
	Fe	Cu	Zn	Se	Rb	Ca	K	Ti
1	6150	13	152	1.6	80	146	2666	1.7
2	5599	17	211	4.1	63	197	2582	2.7
3	5619	15	137	3.8	76	139	2629	5.1
4	5741	15	114	3.5	88	97	3020	3.1
5	5677	17	114	3.7	75	89	2557	5.2
6	7713	27	160	4.6	80	137	3159	6.1
7	6765	17	158	3.2	79	106	3400	5.3
8	5003	15	158	3.9	59	129	2189	4.5
9	5789	15	118	2.9	59	114	2652	5.6
10	5611	14	125	4.0	56	94	2668	4.6
11	4657	15	174	3.2	63	160	2350	2.3
12	6518	14	153	3.9	67	131	3124	5.5

TABLA 7

Razón (Ie/Isr)*100 de otros elementos detectados

Paciente #	Elemento					
	Promedio de seis determinaciones					
	P	S	Cl	Cr	Co	Br
1	84	507	97	1.1	35	9.6
2	69	460	77	1.7	34	10.0
3	52	466	55	2.0	26	2.9
4	80	425	102	0.9	31	2.3
5	50	436	59	2.5	25	3.9
6	35	437	418	3.1	33	49.3
7	104	570	141	1.2	39	6.5
8	30	314	216	1.9	23	22.2
9	50	433	57	2.6	22	2.8
10	57	453	50	2.8	23	1.5
11	67	542	83	1.7	24	3.3
12	64	472	15	3.1	26	2.2

e) Análisis de la solución de Estroncio y anticoagulantes

1) Solución de Estroncio.

TABLA 8

Elemento	Intensidad
Fe	1469
Cu	879
Zn	786
Se	---
Rb	7228
Ti	---
Ni	---
Mn	21
Ca	232
K	12
Sr	3223614
Pb	0

b) ANTICOAGULANTES.

TABLA 9

Anticoagulante CPD

Elemento	Razón (Ie/Isr)*100 Promedio de seis determinaciones
Fe	1.8
Cu	0.25
Zn	6.4
Se	0.16
Rb	0.075
Ca	0.6
K	2.55
Ti	0.02
Ni	0.125
Mn	0.045
P	8.15
S	-----
Cl	1.95
Cr	0.09
Br	0.07
<u>Pb</u>	<u>0.125</u>

TABLA 10
ANTICOAGULANTE HEPARINA.

Marca Leo

Elemento	Razón (Ie/Isr)*100 Promedio de seis determinaciones
Fe	0.40
Cu	0.045
Zn	0.36
Se	0.125
Rb	0.0
Ti	0.04
Ni	0.125
Mn	0.0
Ca	0.11
K	18.0
P	1.25
S	6.5
Cr	0.18
Br	0.01
<u>Pb</u>	<u>0.18</u>

TABLA # 11

Anticoagulante

HEPARINA AZUL

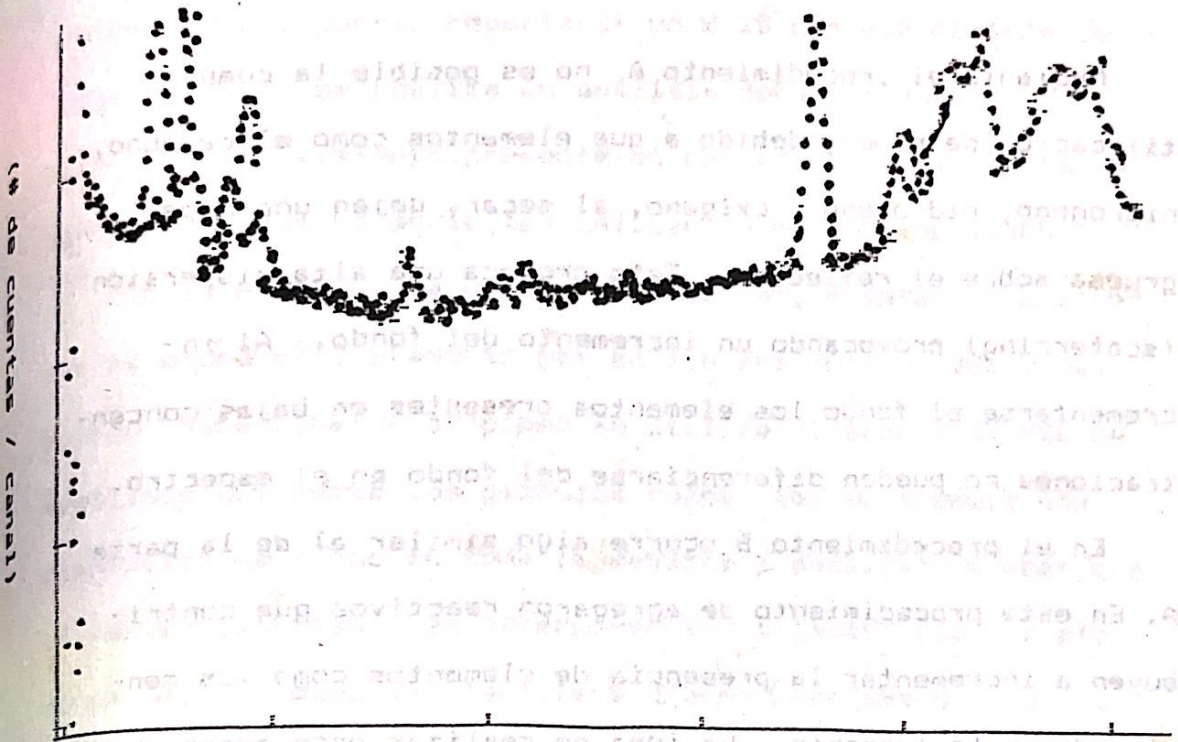
Elemento	Area del pico
P	2154
S	32275
Cl	61252
K	284
Ca	284
Ti	45
Cr	----
Mn	----
Fe	----
Co	----
Zn	309
Br	----
Rb	793
Sr	----
Hg	<u>83805</u>
Pb	----

Utilizando las rectas de regresión calculadas en (1) y (5) se calcula la concentración de Pb presente en los anticoagulantes de las tablas 9 y 10.

TABLA # 11

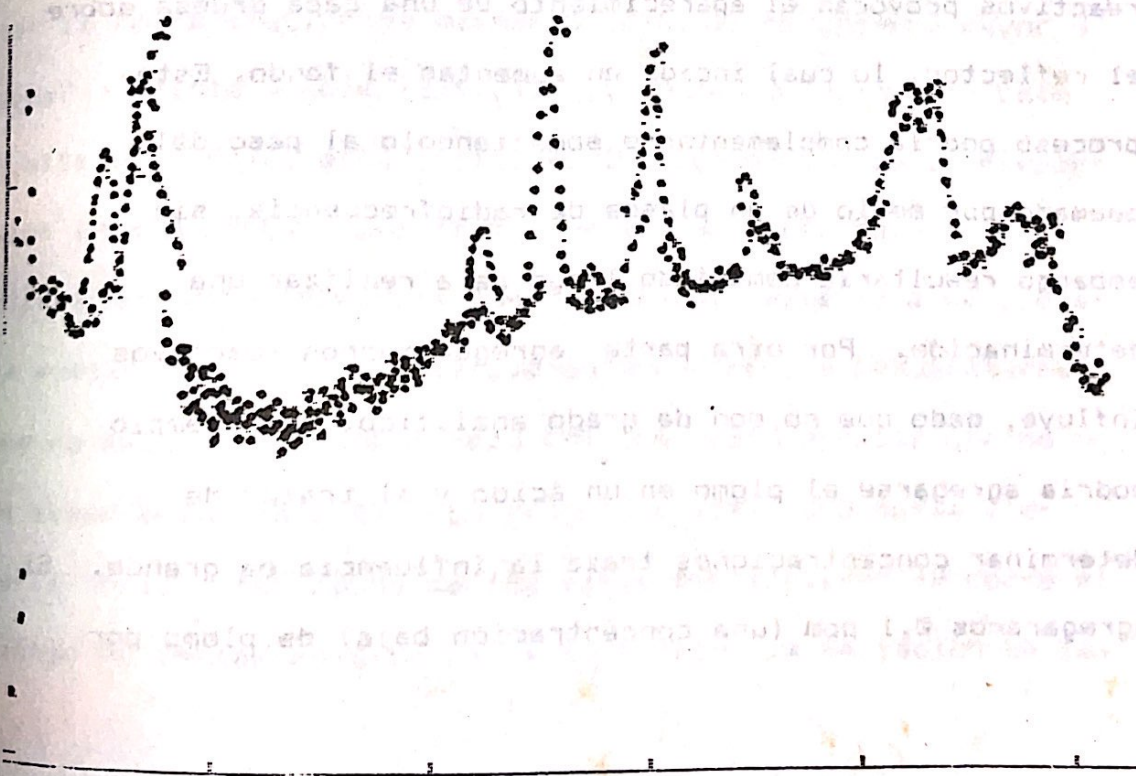
Anticoagulante	ppm de pb
CPD	-0.06601
Heparina	-0.0574425

Los espectros 6 y 7 muestran un ejemplo de la Heparina Leo y la Heparina Azul.



Número de canal

Espectro # 7: Heparina Azul.



Número de canal

V. DISCUSION DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Mediante el procedimiento A no es posible la cuantificación de plomo, debido a que elementos como el carbono, nitrógeno, hidrógeno y oxígeno, al secar, dejan una capa gruesa sobre el reflector. Esto provoca una alta dispersión (scattering) provocando un incremento del fondo. Al incrementarse el fondo los elementos presentes en bajas concentraciones no pueden diferenciarse del fondo en el espectro.

En el procedimiento B ocurre algo similar al de la parte A. En este procedimiento se agregaron reactivos que contribuyen a incrementar la presencia de elementos como los mencionados anteriormente. La idea de realizar este proceso era obtener una muestra homogénea, que se produjera debido a la destrucción de la materia orgánica. Sin embargo, los mismos reactivos provocan el apareamiento de una capa gruesa sobre el reflector, lo cual incide en aumentar el fondo. Este proceso podría complementarse sometiendo al paso del quemado por medio de un plasma de radiofrecuencia, sin embargo resultaría demasiado largo para realizar una determinación. Por otra parte agregar muchos reactivos influye, dado que no son de grado analítico, por ejemplo podría agregarse el plomo en un ácido y al tratar de determinar concentraciones traza la influencia es grande. Si agregaríamos 0.1 ppm (una concentración baja) de plomo por

medio de reactivos y la muestra tuviese 0.15 ppm (dentro del límite normal) podría reportarse un 0.25 ppm que difiere del valor real. Si se realiza un análisis donde se quiera determinar un elemento presente en cantidades como 15 ppm, el agregar 0.1 ppm no sería tan influyente en los resultados.

En la parte C, la utilización de sangre total se basa en que el plomo está presente más en los eritrocitos que en el plasma. Para liberar al plomo se utiliza el procedimiento de hemólisis que rompe los glóbulos rojos, así se produce una disolución de plomo en toda la muestra a analizar. Además que un factor importante es determinar la cantidad total de plomo en sangre, dado que la literatura no menciona que los límites permitidos hayan sido establecidos para concentraciones de plomo en plasma o sérum. La utilización del quemado por medio de un plasma de radiofrecuencia permite incrementar la concentración de elementos con número atómico mayor o igual a veinte y seis ($Z \geq 26$). Los elementos menores a este límite se queman, esto incide en la disminución de la dispersión (scattering) y por tanto implica un fondo bajo. El plasma de radiofrecuencia posee, además, la ventaja de quemar la muestra en tiempos relativamente cortos y a temperaturas que no exceden los 150 grados celsius. Esto permite que no se dé evaporación de elementos traza. Utilizar una mufla llevaría horas y por causa de las altas temperaturas se corre el riesgo de perder muestra por evaporación. La variación en las

lecturas de (Ip/Isr) se debe al hecho de que al tomar una muestra tan pequeña (dos microlitros) de sangre puede tomarse más sérum que plasma (o visceversa) ya que la muestra (matriz) no es totalmente homogénea. Sin embargo, el estándar agregado, Estroncio, corrige este detalle. Si la lectura de plomo es alta la de Estroncio también lo será y visceversa. Debe tenerse en cuenta que la manera como seca la gota sobre el reflector es aleatoria, en cuanto a la forma que posee, y esto influye en el hecho de no saber como están distribuidos los elementos en la muestra seca. Podría haber más plomo en un sector de la gota que en el otro; sin embargo, dado que está centrada sobre el reflector y por su pequeño tamaño se asume que todo el haz incide sobre la muestra para excitarla toda. Si no fuera este el caso, ocurre una excitación parcial de la muestra y por ende puede haber variaciones. El sistema posee, además, sus propias fluctuaciones estadísticas. Realizar varias veces el análisis tomando muestra de sangre distinta cada vez proporciona la posibilidad de realizar análisis estadístico a los datos. La homogenización de la muestra, aunque es bastante buena, no es comparable a una matriz acuosa. Esto es observable en las diferencias existentes entre las concentraciones obtenidas por medio de las curvas sanguínea y acuosa. Las concentraciones reales son las obtenidas por la curva sanguínea; sin embargo, las obtenidas por medio de una curva acuosa permite una semi-

cuantificación de qué tanto plomo contiene una muestra. Puede observarse que la persona con la más alta concentración de plomo en sangre es también la más alta calculada por medio de la curva acuosa. El porcentaje de diferencia entre ambas determinaciones es bajo para concentraciones bajas, debido a que las pendientes de las rectas son parecidas, para ángulos pequeños, sin embargo oscila entre un 60 y 70 % para concentraciones altas. La utilidad de una curva acuosa radica en que es más fácil de construir y medir que la curva sanguínea. Para este trabajo se empleó una bolsa de transfusión con un anticoagulante que no es fácil de conseguir para poder analizarlo. Además que una cantidad de 500 ml de sangre no es posible obtenerla con heparina, debido a que se descompone rápidamente. Así, en determinado caso es posible construir una curva acuosa y cualificar teniendo en consideración que la determinación varía respecto de una curva sanguínea.

El análisis de las gráficas 1 y 2 muestra que existe una correlación lineal entre la concentración de plomo y la razón $(I_{pb}/I_{sr}) * 100$. Poseen un coeficiente de correlación aceptable y la interpolación de valores es válida.

Las muestras reales presentan resultados interesantes. Se observa una clara diferencia entre pacientes no expuestos y los pacientes expuestos. El rango de los pacientes sanos está entre 0.09-0.3025 partes por millón. El paciente # 6 presenta una concentración de plomo por encima del límite

normal. Si quitamos a ese paciente el rango, queda entre 0.09 a 0.1002 partes por millón. Los pacientes ocupacionalmente expuestos, del 7 al 12, presentan un rango que va desde 0.2343 a 0.6838 partes por millón. Se ve claramente que están por encima de los límites normales (que se considera 0.2 ppm) y uno de ellos está por llegar al grado de presentar sintomatología. De acuerdo con Velásquez (14:1980), en una investigación sobre saturnismo, en Guatemala, el promedio de plomo detectado en fabricantes de acumuladores era de 29.73 microgramos de plomo por 100 ml de sangre. Este dato concuerda con el promedio de los pacientes 7, 8 y 9 que es de 28.66 microgramos por 100 ml de sangre. Si promediamos todos los pacientes expuestos, el valor reportado es 41.38 microgramos de plomo por 100 ml de sangre. Los coeficientes de variación oscilan en valores que van desde el 10 al 50%. El coeficiente promedio de variación indica, aproximadamente, un 30%. Este podría considerarse alto, sin embargo, de acuerdo con Pimentel (1976:21), para el método de colorimetría obtuvo valores que van desde el 42% para concentraciones bajas de plomo hasta 12.10% para concentraciones altas. Según Kaplan (1984:1371) el método que emplea ditizona debe poseer una precisión del 97% y un coeficiente de variación del 6%. Los posibles interferentes en este método son plata, bismuto y tantalio.

Las tablas 6 y 7 muestran otros elementos analizados si-

multáneamente. Es interesante observar como existen razones (I_{pb}/I_{sr}) altas para elementos como el hierro y bajas como las obtenidas para el plomo. Estas diferencias dan un índice de la concentración presente en las muestra, por ejemplo hay mucho más hierro que plomo. Se cualificó las presencia de hierro, cobre, zinc, selenio, rubidio, calcio, potasio, titanio, fósforo, azufre, cloro, cromo, cobalto y bromo.

El análisis de la solución patrón de estroncio y los anticoagulantes muestra que el plomo detectado no proviene de haber agregado estos a la muestra. La solución de estroncio no posee plomo mientras que los anticoagulantes CPD y Heparina Leo, aunque se detectó, al calcular sus concentraciones utilizando las curvas, sanguínea o acuosa, están por debajo del límite de determinación del aparato. La heparina azul, aunque no posee plomo, tiene una alta cantidad de mercurio que interfiere en la determinación del pico de plomo.

Finalmente, es posible obtener límites de detección más bajos para el plomo si se incrementa la intensidad del haz o se modifica la geometría del sistema, por ejemplo acortando distancias por donde viaja el haz, para disminuir las pérdidas de intensidad en la interacción con el aire u otros. Según la teoría puede llegarse a obtener detecciones de 0.0001 y 0.0002 partes por millón y en el plomo detectar entre 5 y 10 picogramos. Sin embargo, estos valores han sido interpolados y con la geometría y arreglo experimental utilizados se

obtuvieron límites experimentales más altos de los propues-
tos.

[The following text is extremely faint and largely illegible due to the quality of the scan. It appears to be a technical or scientific report.]

VI. CONCLUSIONES

- A. El método permite cuantificar plomo en sangre humana total.
- B. La preparación de la muestra es simple y rápida.
- C. El método es posible realizarlo en Guatemala, dado que existe la infraestructura tecnológica y experimental.
- D. El método permite la cuantificación simultánea de otros elementos traza en la sangre.

VII. RECOMENDACIONES.

Se sugiere mejorar la técnica de homogenización de la muestra, esto puede lograrse empleando el ultrasonido por más tiempo y tratando de provocar la hemólisis más efectivamente.

Para mejorar la variabilidad es necesario controlar factores como el arreglo experimental del colimador y variar las distancias experimentales. Con esto se indica un rearrreglo geométrico.

Existe la posibilidad de usar la curva acuosa, dada la concordancia que existe entre las rectas sanguínea-acuosa, para una mejor concordancia se debe encontrar el factor de corrección que haga coincidir ambas curvas. Para ello debe ensayarse el procedimiento del trabajo de R. Ayala y S. Letona (Ministerio de Energía y Minas, 1989).

VIII. BIBLIOGRAFIA

1. Aiginger, H. y P. Wobruscheck.
"Total Reflectance X-Ray Spectrometry".
Advanced X-Ray Analysis. Vol 28 (1985)
1-10.
2. Anicin, L. y C.T. Yap.
"New Approach to detection limit deter-
mination in spectroscopy". Nuclear Ins-
truments and methods in Physics. Vol 6,
No 6 (June, 1987) 4-7.
3. Baselt, R.
"Disposition of Toxic Drugs and Chemical
in man". 2nd. ed. New York: Biomedical
Publications. 1980. 795 p.
4. Baselt, R.
"Biological Monithoring Methods in In-
trial Chemicals". New York: Biomedical
Publications. 1980. 750 p.
5. Berman, E.
"Toxic Metals and Their analysis". Lon-
don: Heyden. 1980. 550 p.
6. Chisolm Jr., J.
"Lead Poisoning. Scientific American.

Vol 224, No. 2 (February, 1971) 17-23.

7. Christiansen, J., M. Ihnat, M. Stoeppler, Y. Thomassen, C. Veillon y M. Wolynetz.
"Human Body Fluids-IUPAC proposed reference materials for trace elements".
Frezenius Z. Analytical Chemistry. Vol 326 (1987) 639-642.
8. Durando, M. L.
"Niveles de Contaminación Atmosférica por plomo en la ciudad de Guatemala".
Tesis. Universidad Del Valle. 1980.
175 p.
9. Giddings, J.C.
"Chemistry Man and Environmental Change". San Francisco: Canfield Press.
1973. 472 p.
10. Kaplan, L. y A. Pesce.
"Clinical Chemistry. Theory, Analysis and Correlation". St. Louis: C.V. Mosby Company. 1984. 1476 p.
11. Kinnison, R.
"Pb: In search of facts". Environmental Science and Technology. Vol 10, No. 7, (July, 1976). 644-649.

12. Knoll, G.
"Radiation detection and measurement".
New York: John Wiley & Sons. 1979. 816 p.
13. Knoth, J., H. Schwenke, R. Marten y J. Glauer.
"Determination of Copper and Iron in Human Blood Serum by Energy Dispersive X-Ray Analysis". J. Clin. Chem. Clin. Biochem. Vol 15 (1977) 537-560.
14. Krall, N.A.
"Principles of Plasma Physics". New York: Mcgrawn Hill Company. 1932. 674 p.
15. Michaelis, W., J. Knoth, A. Prange y H. Schwenke.
"Trace Analytical Capabilities of Total Reflection X-Ray Fluorescence Analysis". Advanced X-Ray Analysis. Vol 40 (1986) 75-83.
16. Morehead, R.
"Human Pathology". New York: Mcgrawn Hill Company. 1965. 1676 p.
17. Nadj, M., J. Injuk, J. Lakatos y V. Valkovic.
"Determination of trace elements in body fluids by XRF Spectroscopy". Nu-

- clear Instruments and Methods in Physics Research. Vol 24-25 (1987) 613-616.
18. Perkins, H.
"Air Pollution". New York: McGraw-Hill Company. 1974. 407 p.
19. Pimentel de Ortega, M.
"Determinación de plomo en sangre". Tesis. Universidad de San Carlos. 1976.
25 p.
20. Richterich, R. y J. P. Colombo.
"Clinical Chemistry. Theory, Practice and Interpretation". New York: John Wiley & Sons. 1981. 766 p.
21. Sax, N. I.
"Dangerous Properties of Industrial Materials". 5th. ed. New York: Van Nostrand Reinhold Company. 1979. 1118 p.
22. Skoog, D. y D. West.
"Fundamentals of Analytical Chemistry". 4th. ed. New York: CBS College Publishing. 1982. 859 p.
23. Valkovic, V.
"Analysis of Biological Materials for Trace Elements Using X-Ray Spectros-

- copy". New York: CRC Press Inc. 1980.
242 p.
24. Velasquez, M.
"Saturnismo en Guatemala". Tesis. Universidad de San Carlos. 1980. 25 p.
25. Waldbott, G.
" Health effects of Environmental Pollutants". New York: MOSBY Company. 1978.
350 p.
26. Wobruscheck, P. y H. Aiginger.
" Total Reflection X-Ray Fluorescence Spectrometric Determination of Elements in Nanograms amounts". Analytical Chemistry. Vol 47, No. 6, (May, 1975) 852-855.
27. Wobruscheck, P. y H. Aiginger.
" Analytical Application of Total Reflection and Polarized X-Rays". Frezenius Z. Analytische Chemie. Vol 324, No 865 (1986) 1-10.
28. Wobruscheck, P., H. Aiginger, G. Owsny y C. Strelt.
" Progress in X-Ray Fluorescence analysis". J. Trace and Microprobe Techniques. Vol 6, No. 3. (March ,1988) 295-

336.

29. Yap, C.T.

"X-Ray Total Reflection Fluorescence Analysis of Iron, Copper, Zinc and Bromide in Human Serum". X-Ray Spectrometric. Vol 16, (June, 1980). 1-12.

30. Yap, C.T., R. Ayala y P. Wobrauscheck.

"Quantitative Trace Element Determination in Thin Samples by Total Reflection X-Rays Fluorescence Using Scattered Radiation Method". X-Ray Spectrometric. Vol 17, (May ,1988) 174-178.