



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

TESIS

**CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE BIOMATERIALES EMPLEANDO
ESPECTROSCOPIA DE MASAS Y DE EMISIÓN ÓPTICA CON
PLASMA ACOPLADO INDUCTIVAMENTE (ICP-MS E ICP-OES)**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERA QUÍMICA METALÚRGICA

PRESENTA

Gasca Estrada Susana



MÉXICO, D.F. Noviembre 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Dra. LILIANA VIRGINIA RAQUEL SALDIVAR Y OSORIO
VOCAL: Dr. CIRO ELISEO MÁRQUEZ HERRERA
SECRETARIO: Dr. JOSÉ DE JESÚS GARCÍA VALDES
1er. SUPLENTE: M EN C. SILVIA CITLALLI GAMA GONZALEZ
2° SUPLENTE: QFB BLANCA PAZ DÍAS

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

**LABORATORIOS 208 Y 209, EDIFICIO D DE LA FACULTAD DE QUÍMICA,
UNAM Y LABORATORIO DE METÁLICOS, TOXICOLOGÍA EN EL CINVESTAV
ZACATENCO**

ASESOR DEL TEMA:

Dr. CIRO ELISEO MARQUEZ HERRERA

SUSTENTANTE (S):

GASCA ESTRADA SUSANA

Índice general

Índice de tablas	IV
Índice de figuras	V
Tabla de unidades	VI
Abreviaturas y símbolos	VII
1. RESUMEN.....	1
2. JUSTIFICACIÓN.....	1
3. OBJETIVOS	2
4. HIPÓTESIS	2
5. GENERALIDADES.....	2
5.1. Biomateriales.....	2
5.1.1. Acero inoxidable grado quirúrgico	3
5.1.2. Aleación base titanio Ti6Al4V	3
5.1.3. Hidroxiapatita (HA)	4
5.2. Plasma acoplado inductivamente (ICP).....	6
5.2.1. Generación del ICP	6
5.3. Técnica analítica: Espectroscopia Óptica de Emisión atómica con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-OES).....	8
5.3.1. Fundamentos	8
5.3.2. Sistema de introducción de la muestra al ICP-OES	9
5.3.3. Sistema óptico.....	10
5.3.4. Sistema de detección.....	10
5.3.5. Interferencias posibles en ICP-OES.....	12
5.3.6. Optimización básica para un ICP-OES.....	14
5.4. Técnica analítica: Espectrometría atómica de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-MS).....	16
5.4.1. Sistema de introducción de la muestra al ICP-MS.....	16
5.4.2. Espectrómetro ICP-MS.....	16
5.4.3. Interferencias posibles en ICP-MS	18
5.4.4. Optimización básica para un ICP-MS	18
5.5. Cuantificación de concentración en ICP-MS y en ICP-OES.....	19
5.6. Verificación	20

6.	METODOLOGÍA	22
6.1.	Reactivos de digestión y para técnica ICP-OES	22
6.2.	Reactivos técnica ICP-MS	22
6.3.	Equipo y material	23
6.4.	Digestión de muestras	24
6.4.1.	Digestión vía húmeda	25
6.5.	Preparación de curva de calibración para técnica ICP- OES.....	26
6.5.1.	Curva de Ca y P para técnica ICP OES	26
6.5.2.	Curva S21 + 7 A para técnica ICP OES	26
6.6.	Preparación de curva de calibración para técnica ICP- MS	27
6.7.	Técnica ICP-OES	27
6.7.1.	Descripción del equipo usado para la técnica ICP-OES.....	27
6.7.2.	Optimización ICP-OES	27
6.7.3.	Lectura de muestras en ICP-OES	28
6.7.4.	Estudio espectral para la técnica ICP-OES.....	28
6.7.5.	Verificación de la técnica ICP-OES.	29
6.8.	Técnica ICP-MS.....	29
6.8.1.	Optimización ICP-MS.....	29
6.8.2.	Lectura de muestras en ICP MS	31
6.8.3.	Verificación de técnica ICP-MS.....	31
7.	RESULTADOS.....	32
7.1.	Condiciones de operación óptimas para ICP-OES e ICP-MS.....	32
7.2.	Resultados para verificar el comportamiento de la disolución <i>“Daily performance check”</i> ³²	
7.3.	Técnica ICP-OES	33
7.3.1.	Calibración ICP OES.....	33
7.3.2.	Concentraciones encontradas en las muestras por la técnica ICP-OES	38
7.3.3.	Verificación de la metodología en ICP OES.....	42
7.4.	Resultados para técnica ICP-MS	44
7.4.1.	Calibración ICP-MS.....	44
7.4.2.	Concentraciones encontradas en las muestras por la técnica ICP-MS.....	46
7.4.3.	. Verificación de la metodología en ICP MS.....	47
8.	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN.....	49

8.1.	CONCENTRACIONES OBTENIDAS POR ICP-OES.....	49
8.1.1.	Hidroxiapatitas (HA).....	50
8.1.2.	Aceros inoxidables grado quirúrgico	50
8.1.3.	Aleaciones base titanio.....	51
8.2.	Concentraciones encontradas por ICP-MS.....	52
8.2.1.	Acero inoxidable	52
8.2.2.	Hidroxiapatita	53
8.2.3.	Aleaciones base titanio.....	53
8.3.	Verificación	53
9.	CONCLUSIONES.....	55
10.	REFERENCIAS MESOGRÁFICAS Y BIBLIOGRÁFICAS	56

Índice de tablas

Tabla 5-1 Composición requerida AISI para un acero 316LVM como biomaterial (3) (2). -----	3
Tabla 5-2 Propiedades mecánicas del Titanio para implantes quirúrgicos (5)-----	4
Tabla 5-3 Composición química establecida por la ISO 5832-3 para una aleación Ti-6Al-4V (6)-----	4
Tabla 6-1 Descripción de alícuotas analizadas y su precedente. -----	24
Tabla 7-1 Condiciones de operación para las técnicas ICP-OES e ICP MS -----	32
Tabla 7-2 Resultados de optimización “Daily” -----	32
Tabla 7-3 Elementos y su concentración encontrados en HA con agitación magnética (HA1P1) -----	38
Tabla 7-4 Elementos y su concentración encontrados en HA con agitación magnética (HA1P2) -----	39
Tabla 7-5 Elementos y su concentración encontrados en HA con agitación manual (HA1S1)-----	39
Tabla 7-6 Elementos y su concentración encontrados en HA con agitación manual (HA1S2)-----	39
Tabla 7-7 Elementos y su concentración encontrados en HA con agitación ultrasónica (HA1B1) -----	39
Tabla 7-8 Elementos y su concentración encontrados en HA con agitación ultrasónica (HA1B2) -----	40
Tabla 7-9 Elementos y su concentración encontrados en acero inoxidable 1 (I1) -----	40
Tabla 7-10 Elementos y su concentración encontrados en acero inoxidable 2 (I2)-----	40
Tabla 7-11 Elementos y su concentración encontrados en acero inoxidable 3 (I3)-----	41
Tabla 7-12 Elementos y su concentración encontrados en acero inoxidable 4 (I4)-----	41
Tabla 7-13 Elementos y su concentración encontrados en aleación base Ti (Ti6Al4V) -----	41
Tabla 7-14 Estimación de la exactitud de la metodología en ICP-OES -----	42
Tabla 7-15 Resumen: Coeficiente de correlación para las curvas de calibración en ICP OES -----	43
Tabla 7-16 Límite de detección LOD y límite de cuantificación LOQ en ICP-OES -----	43
Tabla 7-17 Resultados de concentración de elementos potencialmente tóxicos en todas las muestras leídos con ICP-MS -----	46
Tabla 7-18 Estimación de la exactitud de la metodología en ICP-MS en muestras de HA -----	47
Tabla 7-19 Estimación de la exactitud de la metodología en ICP-MS en muestras base Ti-----	47
Tabla 7-20 Estimación de la exactitud de la metodología en ICP-MS en muestras base de acero inoxidable -47	
Tabla 7-21 Resumen: Coeficiente de correlación para las curvas de calibración en ICP MS-----	48
Tabla 7-22 Límite de detección LOD y límite de cuantificación LOQ en la técnica ICP-MS. -----	48
Tabla 8-1 Concentración promedio de elementos mayoritarios en HA -----	50
Tabla 8-2 Concentraciones en porcentaje en peso de elementos mayoritarios encontrados en las muestras de acero inoxidable grado quirúrgico -----	51
Tabla 8-3 Concentración de elementos mayoritarios en la aleación Ti6Al4V-----	51
Tabla 8-4 Concentraciones de elementos potencialmente tóxicos encontrados en muestras de acero inoxidable 316LMV-----	52
Tabla 8-5 Concentraciones de elementos potencialmente tóxicos encontrados en aleaciones base Ti -----	53

Índice de figuras

Figura 5-1 Estructura de una HA $\text{Ca}_{10}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}$ (6).....	6
Figura 5-2 Secuencia de generación del plasma (9).....	7
Figura 5-3 Excitación, decaimiento y emisión de luz (Editado de (12)).....	9
Figura 5-4 Sistema óptico (12).....	10
Figura 5-5 La absorción de fotones por red cristalina de silicio y la formación de pares “hueco-electrón” (12)	11
Figura 5-6 Detector simultáneo (12)	12
Figura 5-7 Ejemplo. Espectro de emisión de As (188.979nm) para las muestras de hidroxiapatita y curva de calibración	13
Figura 5-8 Espectro libre de interferencias	14
Figura 5-9 Sistema de introducción de la muestra al ICP-MS	16
Figura 5-10 Esquema del espectrómetro de masas (Perkin Elmer).....	17
Figura 6-1 Diagrama de flujo. Metodología general	23
Figura 6-2 Criterio para determinar si pasa la prueba “Daily” (tomada del programa de cómputo en operación).....	30
Figura 7-1 Curva de calibración de Ca, (317.933 nm) en ICP-OES	33
Figura 7-2 Curva de calibración de Cr, (267.716 nm) en ICP-OES.....	33
Figura 7-3 Curva de calibración de Pb, (220.353 nm) en ICP-OES	34
Figura 7-4 Curva de calibración de V, (290.880 nm) en ICP-OES.....	34
Figura 7-5 Curva de calibración de Si, (251.611 nm) en ICP-OES	34
Figura 7-6 Espectro de B (249.677nm) para los blancos de digestión y blanco de calibración.	35
Figura 7-7 Espectro de Cr (267.716 nm) para los blancos de digestión y blanco de calibración.	36
Figura 7-8 Espectro de Cd (228.802 nm) para los blancos de digestión y blanco de calibración.	36
Figura 7-9 Espectro de Na (589.592 nm) para los blancos de digestión y blanco de calibración	37
Figura 7-10 Espectro de Si (251.611 nm) para los blancos de digestión y blanco de calibración ...	37
Figura 7-11 Curva de calibración de As, masa 75 en ICP-MS	44
Figura 7-12 Curva de calibración de Cd, masa 111 en ICP-MS	44
Figura 7-13 Curva de calibración de Hg, masa 202 en ICP-MS	45
Figura 7-14 Curva de calibración de Pb, masa 208 en ICP-MS.....	45
Figura 7-15 Curva de calibración de Se, masa 82 en ICP-MS.....	45
Figura 7-16 Curva de calibración de U, masa 238 en ICP-MS.....	46

Tabla de unidades

Unidad	Significado	Equivalencia en el SI
MASA		
ng	nanogramo	1×10^{-6} g
ug	microgramo	1×10^{-6} g
mg	miligramo	1×10^{-3} g
g	gramo	1 g
Kg	kilogramo	1000 g
LONGITUD		
nm	nanómetro	1×10^{-9} m
mm	milímetro	1×10^{-3} m
cm	centímetro	1×10^{-2} m
m	metro	1 m
TIEMPO		
ms	milisegundo	1×10^{-3} s
s	segundo	1 s
min	minuto	60 s
VOLUMEN		
uL	microlitro	1×10^{-6} L
mL	mililitro	1×10^{-3} L
L	litro	1 L
TEMPERATURA		
K	grado Kelvin	1 K
°C	grado Celsius	1 K -273.15
PRESIÓN		
psi	libras fuerza dividida entre una pulgada al cuadrado	6.894×10^3 N.m ⁻²
Torr	Torricelli	133.322 N m ⁻²
Pa	Pascal	1 N m ⁻²
MPa	mega pascal	1×10^6 N m ⁻²
INTENSIDAD DE CAMPO MAGNÉTICO		
W	Watt	1 m ² kg s ⁻³
FRECUENCIA		
Hz	Hercio	1 s ⁻¹
MHz	mega Herzt	1×10^6 s ⁻¹
CONDUCTANCIA		
S	Siemens	1 C ² s Kg ⁻¹ m ⁻²
CONCENTRACIÓN		
	Masa-volumen o masa masa	Ejemplos
ppm	parte por millón	1 mg/L, 1 mg/kg
ppb	parte por billón	1 ug/L, 1 ug/Kg
ppt	parte por trillón	1 ng/L, 1ng/kg

Abreviaturas y símbolos

ABREVIATURA	SIGNIFICADO
AISI	Instituto americano de hierro y acero
C	Concentración
cps	cuentas por segundo
DRC	celda de discriminación por reacción
DV	detector dual
HA	Hidroxiapatita
I	Intensidad
ICP	plasma acoplado inductivamente
IUPAC	Unión internacional de química pura y aplicada
KED	Celda de discriminación por energía cinética
LOD	límite de detección
LOQ	límite de cuantificación
LVM	Fundición al bajo vacío
MS	Masas
OES	Espectrómetro de emisión óptica
R	Recuperación
RF	Generador de radiofrecuencia
RSD	Desviación estándar relativa
SD	Desviación estándar
STD	Disolución estándar
SÍMBOLO	SIGNIFICADO
C'	Velocidad de la luz ($3 \times 10^8 \text{ m s}^{-1}$)
λ	longitud de onda
ν	Frecuencia
h	constante de Plank ($6.6262 \times 10^{-34} \text{ J s}$)

1. RESUMEN

Debido a que un biomaterial es un material diseñado para actuar interfacialmente con sistemas biológicos, se diseñó una metodología usando un espectrómetro de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP- MS por sus siglas en inglés) para cuantificar elementos potencialmente tóxicos desde niveles de traza y ultra traza (ppm y ppb). Paralelo a ello se desarrolló la metodología para cuantificar elementos mayoritarios usando un espectrómetro de emisión óptica también con plasma acoplado inductivamente (ICP- OES).

Se analizaron tres tipos de biomateriales, acero inoxidable grado quirúrgico, aleación base titanio (Ti6Al4V) y tres muestras de hidroxiapatita que difieren en el modo de agitación durante su cristalización: con sonicador, magnética y manual. Para ello se estableció una metodología de digestión para cada tipo de biomaterial analizado y se encontraron los parámetros óptimos de operación del espectrómetro de masas así como del óptico.

Encontradas las condiciones óptimas se analizaron las muestras digeridas con ambas técnicas. Se estudió cada espectro de cada elemento cuantificado por la técnica ICP- OES. Se reportan las composiciones encontradas así como parámetros de verificación de ambos métodos analíticos tales como: límite de detección, límite de cuantificación, linealidad en las curvas de calibración, repetibilidad y exactitud. Por último se hizo una comparación de ambas técnicas.

2. JUSTIFICACIÓN

Por la naturaleza de aplicación de los biomateriales resulta importante conocer su composición específica tanto de los elementos mayoritarios como de los elementos minoritarios, trazas (niveles de partes por millón) y ultra trazas (partes por billón) de elementos potencialmente tóxicos.

En la actualidad existen normas que especifican la composición requerida para los biomateriales y sus materias primas. Para ello es necesario conocer con confiabilidad¹ su composición desde los elementos a nivel traza y ultra traza hasta los elementos que componen la matriz para garantizar que cumplan con la normatividad establecida. Estos requerimientos exigen técnicas analíticas que permitan la cuantificación de altas concentraciones de elementos matriz así como de las concentraciones a niveles de trazas para determinar la existencia o ausencia de elementos potencialmente tóxicos (As, Se, Cd, Hg, Pb, U).

Aún optimizadas las técnicas analíticas, no se ha encontrado una metodología que tenga un intervalo de trabajo que permita cuantificar desde concentraciones en partes por billón (ppb) hasta porcentajes en peso con altas resoluciones en todos los puntos. Por tal motivo se requiere una metodología analítica con una técnica suficientemente sensible para

¹ Confiabilidad: Término cualitativo que expresa el grado de cumplimiento satisfactorio de un método analítico en términos de sus variados atributos técnicos (aplicabilidad, exactitud, precisión, sensibilidad y detectabilidad) (21).

detectar niveles de ppb y otra para determinar las concentraciones de los elementos mayoritarios. Asegurando así la confiabilidad de los resultados en ambos niveles.

La espectroscopia óptica de emisión con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) tiene un amplio intervalo de trabajo. Es capaz de determinar porcentajes en peso y partes por millón en una sola curva de calibración. El espectrómetro de masas, también con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) tiene la sensibilidad para detectar concentraciones a niveles de partes por billón y partes por trillón (ppt)

Es necesario identificar los inconvenientes que presente cada técnica y disminuirlos en la medida de lo posible así como encontrar los parámetros de operación óptimos para analizar los biomateriales: Hidróxiapatitas, acero inoxidable grado quirúrgico 316L y aleación Ti6Al4V.

3. OBJETIVOS

- Establecer las metodologías de digestión propias para acero inoxidable grado quirúrgico, aleaciones base titanio e hidroxapatita.
- Encontrar los mejores parámetros de operación para el ICP-OES así como para el ICP-MS.
- Obtener, para cada técnica (ICP-OES e ICP-MS), algunos parámetros de verificación como: límite de detección (LOD), límite de cuantificación (LOQ), exactitud, precisión y la linealidad de las curvas de calibración, con el fin de verificar los resultados obtenidos.

4. HIPÓTESIS

Si se encuentran las metodologías de digestión adecuadas para cada biomaterial estudiado, y las mejores condiciones de operación para las técnicas ICP-OES e ICP-MS, entonces se podrán cuantificar confiablemente tanto los elementos mayoritarios como los potencialmente tóxicos.

5. GENERALIDADES

5.1. Biomateriales

La investigación en el área de los biomateriales, en sentido amplio, se inició hace ya muchos siglos puesto que es posible encontrar trazas de prótesis implantadas en momias egipcias. Sin embargo, es a partir de la segunda guerra mundial, cuando en un intento por resolver los problemas cotidianos asociados al tratamiento masivo de pacientes, aparece un vasto campo asociado a la tecnología médica y en concreto va tomando cuerpo una ciencia de los biomateriales. Hoy en día la definición más amplia y ajustada en 1991 por el consenso sobre definiciones en este campo es: **“un material diseñado para actuar interfacialmente con sistemas biológicos con el fin de evaluar, tratar, aumentar o reemplazar algún tejido, órgano o función del cuerpo”** (1)

5.1.1. Acero inoxidable grado quirúrgico

El desarrollo original de los aceros inoxidables aconteció en los albores de la primera guerra mundial. En forma independiente y casi simultánea, en Inglaterra y en Alemania se descubrieron los aceros inoxidables tal como se conocen ahora. El metalúrgico inglés Harry Brearly investigó cómo mejorar una aleación para proteger los cilindros de los cañones. Encontró que agregando cromo a los aceros de bajo carbono, obtenía aceros “resistentes a las manchas” o resistentes a la corrosión.

El grado **316LVM** (por sus siglas en inglés “*Low Vacuum Melting*” fundido al bajo vacío) es un acero inoxidable cromo-molibdeno con bajos contenidos de carbono para minimizar la precipitación de carburos de cromo, fase que fragiliza la aleación. Esta aleación es ampliamente usada en implantes médicos debido a que tiene un costo relativamente bajo, facilidad de producción y resistencia a la corrosión. El acero 304, aunque raramente, también es empleado para la fabricación de prótesis (2) por las mismas características de producción y resistencia al ataque químico. En la **Tabla 5-1** se presentan las composiciones de los acero AISI 316LMV y 304 (3) (2) para la fabricación de biomateriales y la del 316 para uso común.

	%C	%Si	%Mn	%P	%S	%Cr	%Mo	%Ni
AISI 316	≤ 0.07	≤ 1.00	≤ 2.00	≤ 0.045	≤ 0.015	16.50-18.50	2.00-2.50	10.00-13.00
AISI 316LVM	≤ 0.03	0.5	1.4	--	--	17.0	2.2	11.5
AISI 304 (2)	0.066	0.58	0.82	0.029	0.02	18.29	0.14	8.7

Tabla 5-1 Composición requerida AISI para un acero 316LVM como biomaterial (3) (2).

5.1.2. Aleación base titanio Ti6Al4V

Hasta el siglo XVIII los materiales metálicos utilizados en implantes quirúrgicos eran fundamentalmente el oro y la plata, en el XIX empezaron a utilizarse los aceros, y en estos años, también aparecieron los inoxidables y las aleaciones de cromo, cobalto y molibdeno. En los 40's se introdujeron el titanio y sus aleaciones en el campo de la medicina. Fueron Bothe, Beaton y colaboradores que mediante la implantación en animales (4), observaron su excelente biocompatibilidad, comparable a la del acero inoxidable o a la del Vitallium (CoCrMo). La baja densidad (4.7 g/cm³) comparada con la del acero inoxidable (7.9 g/cm³), junto a sus buenas propiedades mecánicas y su alta resistencia a la corrosión, hacen del titanio un biomaterial de sumo interés para su aplicación en implantes quirúrgicos. Según sus propiedades mecánicas, existen cuatro grados de titanio sin alear normalizados para implantes quirúrgicos, dependiendo del contenido de impurezas (oxígeno, nitrógeno, carbono, hidrógeno, y hierro) que son las que controlan sus propiedades mecánicas. (**Tabla 5-2**)

PROPIEDADES	GRADO 1	GRADO 2	GRADO 3	GRADO 4
CARGA DE ROTURA (MPa)	240	345	450	550
LÍMITE ELÁSTICO (0.2%, MPa)	170	275	380	485
% ELONGACIÓN	24	20	18	15

Tabla 5-2 Propiedades mecánicas del Titanio para implantes quirúrgicos (5)

El titanio y sus aleaciones poseen una excelente resistencia a la corrosión por la rápida reacción del titanio con el oxígeno, se produce una fina capa superficial de óxido impermeable y por lo tanto protectora. Este comportamiento, que tiene también lugar en el aluminio, es más eficiente en el titanio, dando lugar a una resistencia a la corrosión superficial. Todo ello justifica su uso en la industria química y en ambientes altamente corrosivos, y en particular hace del titanio y sus aleaciones los metales más adecuados para la fabricación de implantes quirúrgicos.

La aleación Ti-6Al-4V es la más utilizada industrialmente de todas las aleaciones de titanio y a ella se dedica la mitad de la producción del titanio total. Esto se debe al excelente balance entre sus propiedades mecánicas, su resistencia a la corrosión, su buen comportamiento a temperaturas elevadas. Se destaca también por su capacidad para trabajarse mecánicamente y de modificar sus propiedades mediante tratamientos térmicos. Se elabora por sinterización al vacío (10^{-4} atm) con calentamientos de velocidad de 10 a 15 °C/min (6). De acuerdo con la norma ISO-5832-3 la composición química de la aleación de titanio Ti-6Al-4V se muestra en la **Tabla 5-3**.

Elemento	%Al	%V	%N	%C	%H	%Fe	%O	%Ti
Límite inferior	5.5	3.4	---	---	---	---	---	Balance
Límite superior	≤6.5	≤4.5	≤0.5	≤0.08	≤0.015	<0.3	<0.2	

Tabla 5-3 Composición química establecida por la ISO 5832-3 para una aleación Ti-6Al-4V (6)

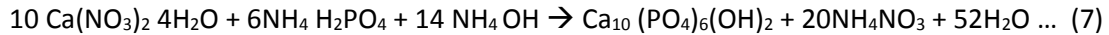
5.1.3. Hidroxiapatita (HA)

En el cuerpo humano existen 206 huesos que varían en forma, tamaño y función, son la forma rígida del tejido conjuntivo que integra la mayor parte del esqueleto de los vertebrados. Mantienen la forma externa del cuerpo humano y, junto con las articulaciones, proveen un sistema de palancas sobre las que se insertan los músculos y tendones. Son un tejido vascularizado dinámico que sangra al ser cortado y puede morir al sufrir una lesión. Son bioquímicamente activos y contienen la mayor parte del fósforo y calcio del organismo (1). Algunos como los craneanos y torácicos protegen órganos internos. Muchos en su interior contienen médula ósea.

La hidroxiapatita (HA) es un fosfato de calcio con composición química similar a la del hueso humano, que la hace biocompatible con los tejidos vivos y posibilita su uso en variadas aplicaciones médicas. Se puede usar como reemplazo de partes pequeñas, relleno de cavidades en odontología, recubrimiento de superficies de metales para

implantes, refuerzo en materiales compuestos y como liberador de medicamentos, entre otros. La precipitación es el método más común para su obtención en cantidades apreciables de forma económica y fácilmente reproducible. En este método, se debe controlar el pH, la temperatura de reacción, tiempo de la reacción, la atmósfera de tratamiento, la relación Ca/P, composición, impurezas, morfología, cristalinidad, tamaño del cristal y de las partículas. Mínimas variaciones ocasionan diferentes comportamientos del material implantado, tales como bio-actividad, rango de disolución y reabsorción.

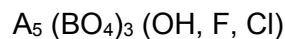
La reacción de formación de HA:



Se realiza en condiciones de alta basicidad y se evita la presencia de contaminantes como Mg^{++} y Cl^- . La pulpa (HA precipitada) se obtiene a partir de procesos sucesivos de agitación, reposo, decantación, lavado y finalmente centrifugado (8). Para cada aplicación de la materia prima de calcio se optimizan especificando las propiedades físicas y químicas tales como la geometría, dimensión, densidad, tamaño de poro, fuerza mecánica, pureza, y la fase química del material.

Caracterización química: La hidroxiapatita (HA) es un fosfato de calcio. Sus principales aplicaciones son la separación y purificación de proteínas y los implantes de hueso. Es un compuesto cristalino integrado por tres moléculas de fosfato de calcio y una de hidróxido de calcio. El concentrado de la HA es la matriz de calcio de la proteína encontrada en el hueso sin procesar. El **calcio abarca entre el 24 y 30% de la matriz** y junto con varios minerales (zinc, potasio, silicio, manganeso, hierro) forman un conjunto biodisponible activo de calcio.

La fórmula general para el grupo apatita es:



Donde A y B son cationes. A puede ser: calcio, bario, sodio, plomo, estroncio, lantano o cerio y B puede ser: fósforo, vanadio o arsénico. El anión silicato (SiO_4^{4-}), puede sustituir en un grado limitado a los grupos BO_4 (7).

Aron y Posner (1958) propusieron la estructura cristalina de la HA a partir del análisis de un mono cristal (7). Este fosfato cristaliza en el sistema hexagonal, con valores de red $a=b= 9.432 \text{ \AA}$ y $c= 6.88 \text{ \AA}$ (**Figura 5-1**).

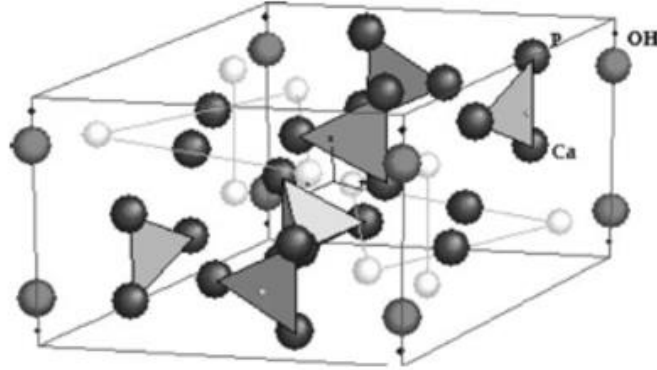


Figura 5-1 Estructura de una HA $Ca_{10}(HPO_4)_x(PO_4)_{6-x}$ (6)

Además este carácter iónico le proporciona la capacidad de la sustitución parcial o completa de iones de la red por otros de tamaño similar (PO_4^{3-} por HPO_4^{2-} , Ca^{2+} por K^+ o Mg^{2+} , OH^- por F^- , Cl^- o Br^-) y le proporciona su propiedad de insolubilidad. La relación ideal Ca/P es mayor a 10:6 (>1.6667), su densidad calculada es de $3.219g/cm^3$ y sus propiedades mecánicas varían de acuerdo con el proceso de manufactura; la HA policristalina tiene un módulo elástico alto (40-117 GPa).

5.2. Plasma acoplado inductivamente (ICP)

El ICP es la fuente de energía para la vaporización, atomización, ionización y excitación de las moléculas que forman la muestra. Permite el análisis simultáneo de elementos múltiples vía emisión atómica. La muestra debe ser acuosa y estar nebulizada. Pasa a través del núcleo central del plasma sin interactuar significativamente con la atmósfera reactiva circundante. La trayectoria del analito está aislada y confinada por el gas de plasma de argón eficazmente.

5.2.1. Generación del ICP

El plasma se forma con un flujo de gas argón (usualmente 8-20 L/min) a través de tres tubos de cuarzo concéntricos conocidos como **antorcha** del plasma. La más común tiene un diámetro interno de 18 mm, está cercada en la parte superior por una bobina de inducción de cobre, conectada a generador de radiofrecuencia (RF). Éste opera en un intervalo de frecuencias de 27 a 40 MHz y a potencias de salida de 1 a 2 KW (9). El campo magnético, generado por la corriente de RF que pasa a través de la bobina de inducción, ioniza parte de los átomos de la corriente de gas Ar. El plasma se forma instantáneamente cuando el Ar se alimenta con electrones energéticos producidos por una descarga Tesla de alto voltaje (10) (9) (**esquemas A, B y C de la Figura 5-2**)

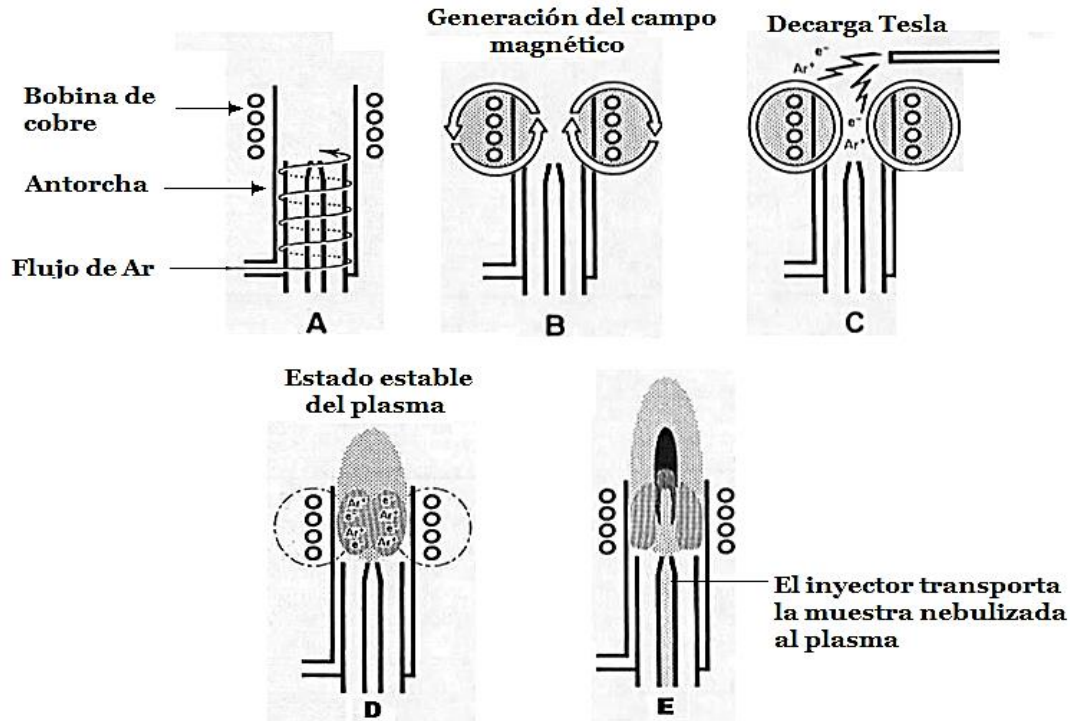


Figura 5-2 Secuencia de generación del plasma (9)

Los electrones y los iones de argón se aceleran por el campo electromagnético de alta frecuencia generado por la bobina de inducción. La energía que se transfiere dentro del plasma es dominada por electrones, debido a que tienen menor masa y adquieren mayor velocidad. El estado estable de éste ocurre cuando la velocidad a la que los electrones se liberan mediante colisiones ionizantes, iguala la velocidad a la que se recombinan. Las recombinaciones ion-electrón emiten luz produciendo un espectro continuo correspondiente a la distribución de energías cinéticas de los iones en el plasma.

El plasma tiene un perfil de temperaturas de 10 000 a 6 000K. La zona más caliente está a la altura de la bobina de inducción, donde se genera. En la fría, es posible que se formen óxidos, que son indeseables. Para evitarlo, en el ICP-OES se usa aire seco de corte y en el ICP-MS se sitúa la interface (cono muestreador) por la que pasan los iones del plasma al espectrómetro. Éstos funcionan como barrera física que cortan el plasma para minimizar la probabilidad de la formación de óxidos.

5.3. Técnica analítica: Espectroscopia Óptica de Emisión atómica con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-OES)

5.3.1. Fundamentos

La teoría atómica asocia la emisión de radiación por parte de los átomos con el comportamiento de los electrones, en concreto con la distancia a la que éstos se encuentran del núcleo. Cuando un electrón pasa de una órbita externa a una interna, la diferencia de energía entre ambas se emite en forma de radiación electromagnética, es decir, fotones.

$$E_2 - E_1 = h\nu \quad (11)$$

Ecuación 5-1 Relación de la frecuencia de la onda electromagnética liberada cuando el electrón salta de un nivel de mayor a uno de menor energía.

donde

E_2 - es la energía del Orbital externo.

E_1 - es energía del Orbital interno

h - constante de Plank (6.6262×10^{-34} Js) (11)

ν - es la frecuencia

La luz es una radiación electromagnética. Las ondas electromagnéticas propagan energía mediante la vibración de un campo eléctrico y uno magnético perpendiculares. Las características que las definen y diferencian son:

- Longitud de onda (λ): Es la distancia mínima entre dos puntos que están en el mismo estado de vibración.
- Frecuencia (ν): Número de ciclos por unidad de tiempo cuya unidad en el SI es Hertz o
- Hercio (Hz), equivalente a un ciclo por segundo.

La relación de la longitud de onda con la frecuencia es la siguiente:

$$\lambda = c'/\nu$$

Ecuación 5-2 Relación de la longitud de onda con la frecuencia. (11)

donde C' es la velocidad de la luz $= 3 \times 10^8$ m/s.

La emisión de radiación electromagnética se produce en forma de "paquetes" o "cuantos" de energía (fotones). No es continua, los átomos no pueden absorber o emitir cualquier valor de energía según su especie. Sólo unos valores concretos. El conjunto se denomina espectro de un elemento y es característico de éste, lo que permite diferenciar uno de

otro. La determinación cuantitativa de los elementos es posible debido a que la cantidad de fotones liberados es directamente proporcional a los átomos cuyos electrones bajaron a un nivel de menor energía, y por tanto a la concentración. De este modo, al clasificar los fotones por su longitud de onda y cuantificarlos, es posible identificar los elementos presentes y asociar una concentración de éstos en una muestra.

En grandes rasgos, un espectrómetro óptico cuenta con: el sistema de introducción de la muestra, una fuente de excitación para provocar la emisión de los espectros (ICP), el monocromador, encargado de la separación en sus diferentes longitudes de onda de la luz producida, un detector que recibe los fotones previamente separados y un procesador que recibe corrientes del detector y las digitaliza para su interpretación (12).

La **Figura 5-3** esquematiza el modelo atómico de Bohr. Donde, debido a una excitación, el electrón salta a un orbital con mayor energía y al regresar se libera un fotón a la longitud de onda intrínseca del elemento del átomo excitado.

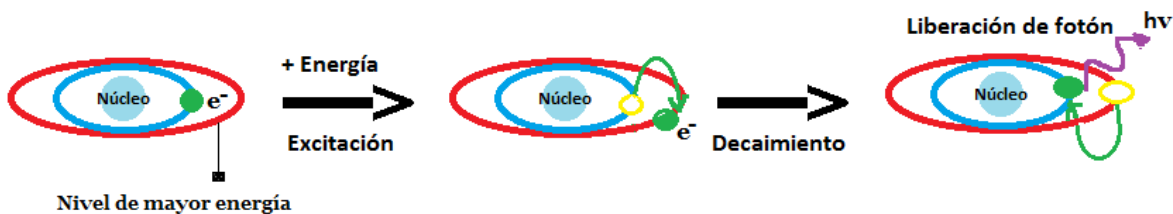


Figura 5-3 Excitación, decaimiento y emisión de luz (Editado de (12))

5.3.2. Sistema de introducción de la muestra al ICP-OES

La muestra acuosa se introduce a través de los **capilares** al sistema de nebulización. El motor de empuje es la **bomba peristáltica** que consiste en un riel circular con cilindros de acero inoxidable girando unidireccionalmente. Los capilares se presionan hacia la bomba peristáltica y el giro de los rodillos provoca el desplazamiento de lo contenido en el capilar, esto genera un vacío que provoca la succión continua de la solución para llenar los vacíos. La muestra llega al **nebulizador** que funciona por el rompimiento de las gotas por un golpe de gas a alta velocidad. La muestra sale de un capilar y gotea sobre la salida de otro capilar paralelo donde sale un flujo de Ar a alta velocidad, cuando éstos se encuentran el Ar rompe la muestra en gotas de menor tamaño produciendo un aerosol.

Las gotas en un aerosol ideal para ICP-OES son finas mono dispersas, viajan con una velocidad uniforme y no presentan intermitencias en los tiempos de llegada. Solamente las gotas bajo de un cierto tamaño resultan en completa solvatación-vaporización-atomización-ionización y excitación y producen una considerable población de átomos excitados (9) (13) por tal motivo, la calidad de la nebulización es crucial. La **cámara de**

rocío mejora la calidad del aerosol eliminando las gotas de mayor tamaño y permite el paso de la neblina de muestra fina al inyector. Para esta técnica se usó una cámara ciclónica. El inyector es el encargado de transportar la muestra nebulizada desde la cámara ciclónica al interior del plasma, el usado en el ICP OES es de alúmina por ser resistente al ataque químico y a altas temperaturas.

5.3.3. Sistema óptico

El sistema óptico separa la luz emitida por el plasma y los átomos que se hayan excitado en él. Está compuesto principalmente por ventanas que permiten la entrada de luz axial o radialmente, prismas parabólicos para direccionar la luz, una rejilla Echell para difractar la luz y separarla en longitudes de onda, prisma de Newton para difractar la luz visible, espejos que direccionan la luz, entre otros. La **Figura 5-4** ilustra la trayectoria de la luz desde el ICP hasta los detectores.

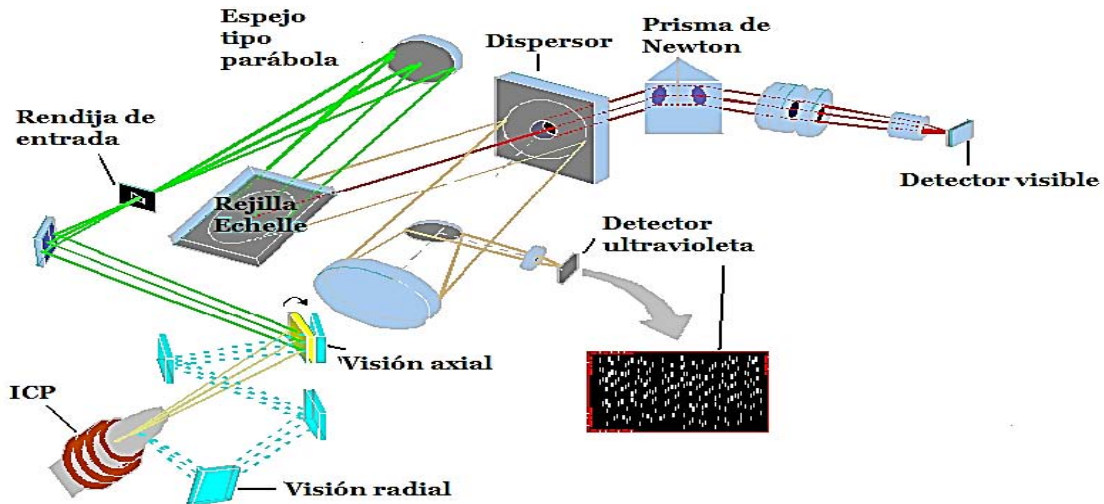


Figura 5-4 Sistema óptico (12)

5.3.4. Sistema de detección

El detector consiste en bloques de silicio cristalino de alta pureza (**Figura 5-5**). Sobre cada sustrato, se cultiva una capa aislante de dióxido de silicio (SiO_2). Los átomos se encuentran unidos en una red tridimensional. El enlace entre silicios se rompe cuando es golpeado con una cantidad de energía suficiente para vencer su resistencia, tal como fotones con longitud de onda visible o ultravioleta. Cuando se libera un electrón dentro de la estructura de la red, se forma un par electrón-hueco. Si se aplica un voltaje a través del bloque, los electrones liberados se moverán en la dirección opuesta del campo eléctrico aplicado, la corriente generada es proporcional a la cantidad de fotones que llegaron. Con la llegada de microprocesadores de alta velocidad, se pueden examinar pixeles individuales, incluso durante el tiempo de integración (tiempo en que los fotones son

absorbidos por la red cristalina, antes de aplicar el voltaje que provoque el movimiento de electrones) para determinar la cantidad de carga acumulada.

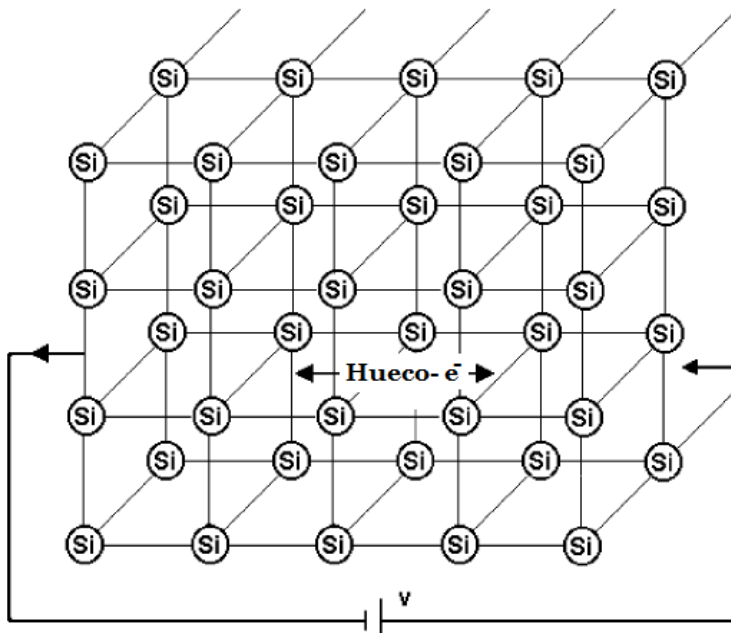


Figura 5-5 La absorción de fotones por red cristalina de silicio y la formación de pares "hueco- electrón" (12)

El detector SCD (por su significado en inglés "*Segmented-array Charged-Coupled Device Detector*": Dispositivo detector de transferencia de carga segmentada), (**Figura 5-6**) ha sido diseñado para la colección individual segmentada de fotones. En este tipo de detector hay más de 200 subconjuntos de colectores colocados en una pequeña placa de silicio en un patrón bidimensional asociado con el **Echellograma** producido por el espectrómetro. Estos subconjuntos corresponden a las líneas espectrales más importantes en ICP de los 76 elementos observados en ICP-OES.

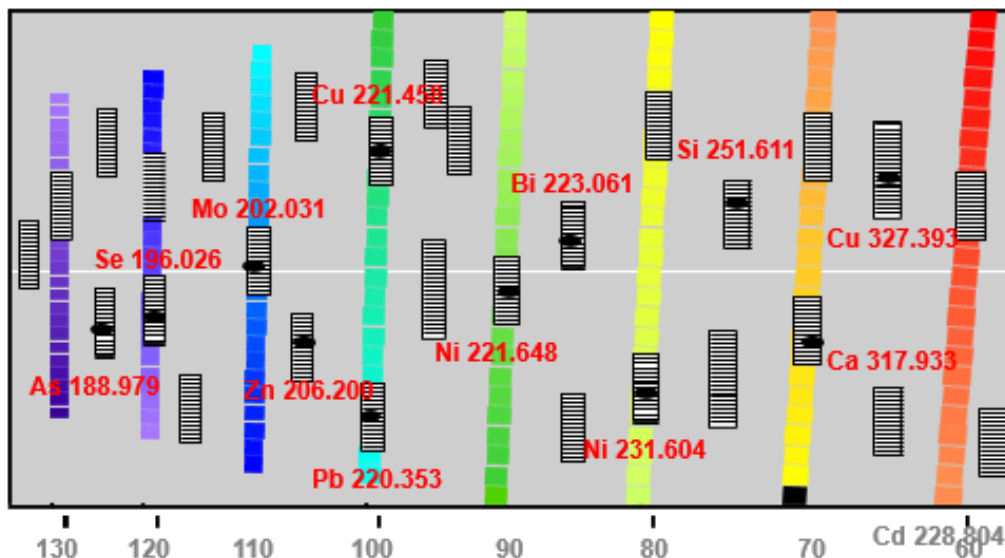


Figura 5-6 Detector simultáneo (12)

5.3.5. Interferencias posibles en ICP-OES

Las posibles interferencias son físicas, químicas y espectrales. Las físicas son aquellas que provienen de la matriz o mala digestión de la muestra. Las químicas ocurren cuando el analito se combina con otro elemento impidiendo la excitación, por tanto la emisión. Las espectrales ocurren cuando se traslapan las longitudes de onda de otros elementos con la longitud de onda del analito.

5.3.5.1. Espectros ópticos

El procesador recibe y transforma la información del detector. Ésta básicamente es la intensidad medida en cada zona del detector y cada una recibe fotones de una longitud de onda. Los espectros se forman al graficarse la intensidad medida en cuentas por segundo en cada punto del detector que está asociado a una longitud de onda. (9)

5.3.5.2. Evaluación de espectros ópticos

Las **interferencias espectrales** se deben a la presencia de otro(s) elemento(s) que emitan fotones con longitudes de onda muy cercanas a la de estudio. De no ser corregidas éstas invalidan los resultados. Se ilustra un espectro para la evaluación de interferencias:

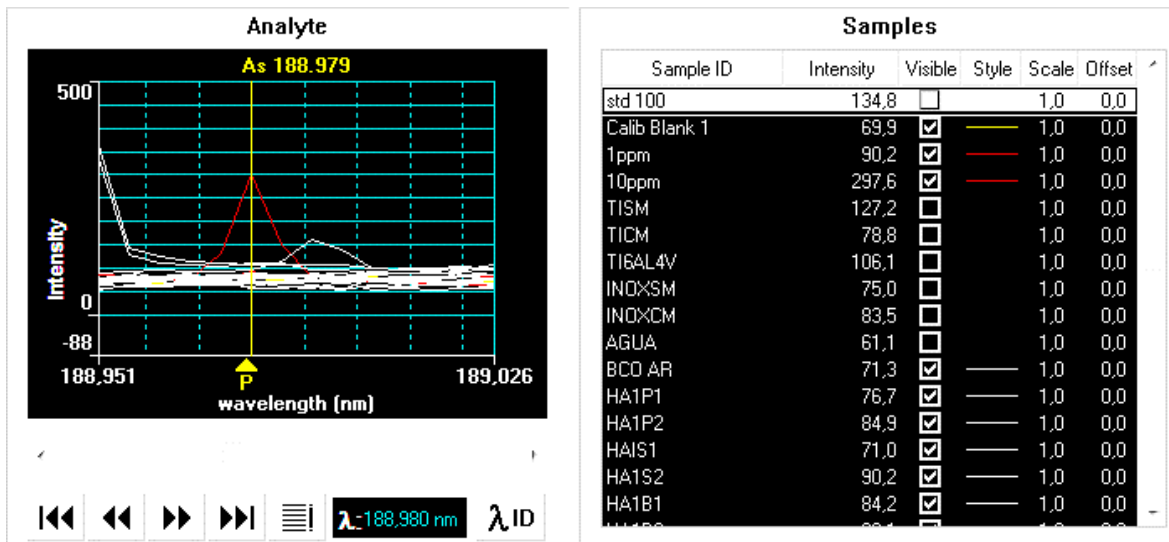


Figura 5-7 Ejemplo. Espectro de emisión de As (188.979nm) para las muestras de hidroxiapatita y curva de calibración

En la **Figura 5-7** se observa, del lado izquierdo los espectros de emisión para As (188.979nm) de las muestras. El eje vertical representa la intensidad en cuentas por segundo y el eje horizontal la longitud de onda en nanómetros. Bajo el área del gráfico aparecen las herramientas para cambiar de longitud de onda y poder estudiar otros analitos. Del lado derecho se encuentra la identificación de las muestras y su intensidad en la longitud de onda donde se encuentre el “cursor P” (línea amarilla que aparece en el área de gráfico), en las casillas de selección se indica si se observa el espectro en el área izquierda y junto el color que representará a esa muestra.

El espectro del estándar de calibración de 10 ppm se muestra de color rojo, es el pico más alto. Junto a éste se observa un pico que puede tratarse de alguna interferencia para As en la longitud de onda de 188.979nm. Debido a que se distinguen fácilmente los dos picos se determina que éste no genera interferencia espectral.

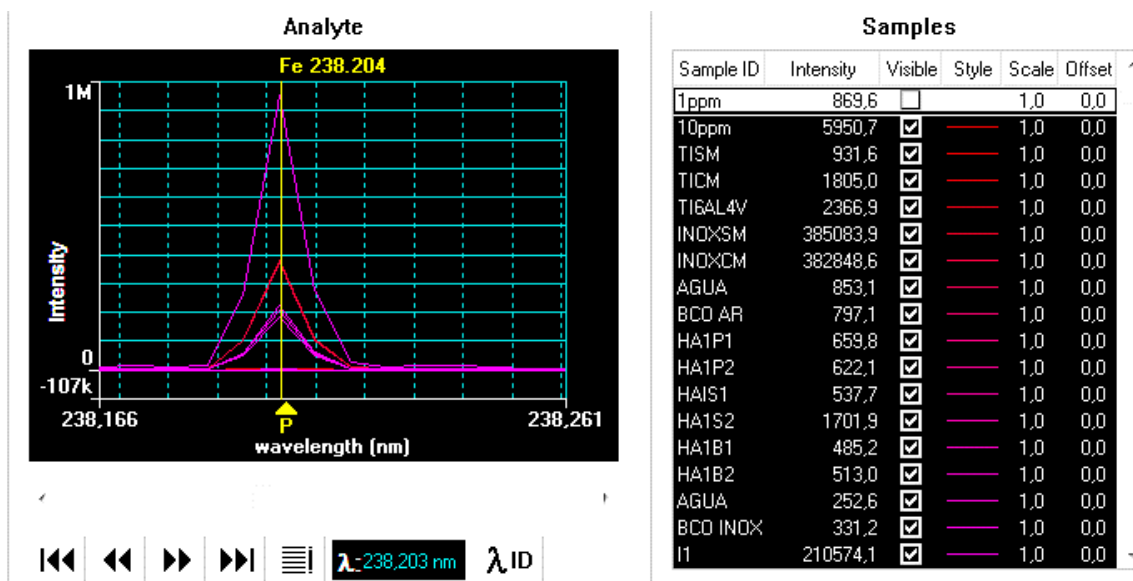


Figura 5-8 Espectro libre de interferencias

En la **Figura 5-8** aparece el ejemplo de un espectro libre de interferencias. Para todas las lecturas se distingue claramente el inicio, altura y fin del pico, también se observa que la línea base es cero, lo que indica que la matriz no genera interferencia física para ninguna muestra.

Los espectros de los blancos de calibración, como los blancos de digestión pueden indicar si el valor numérico de la concentración proviene de la presencia del analito, en la muestra, los ácidos de digestión o del agua (en muestras acuosas).

5.3.6. Optimización básica para un ICP-OES

De la optimización depende la calidad del análisis.

5.3.6.1. Velocidad de bomba peristáltica

La cantidad de muestra que entra en el nebulizador depende de la velocidad de la bomba peristáltica y del calibre de los capilares. Debe permitir que la nebulización sea eficiente y que la lectura arroje un resultado representativo y (9) (13).

5.3.6.2. Flujo de nebulización

Particularmente, el flujo de nebulización es el parámetro crítico para la calidad del aerosol de la muestra. De la calidad del aerosol depende que la muestra se vaporice, atomice, ionice y se excite en el plasma (9). Es esencial tener un alto grado de control en este flujo de gas.

5.3.6.3. Potencia

La intensidad de las señales espectrométricas de analitos y el ruido de fondo son dependientes de la densidad de potencia del plasma. Por tal motivo se requiere encontrar la potencia en la que se disminuya el ruido de fondo y se incremente la señal.

5.3.6.4. Gas auxiliar

El gas auxiliar es un flujo de argón que circula alrededor del plasma con el fin de proteger al sistema de la radiación emitida por éste. Cuando se excede disminuye la probabilidad de que existan átomos excitados; sin embargo, no es un parámetro crítico debido a que no es necesario modificarlo una vez que se establece el óptimo.

5.3.6.5. Longitud de onda

Cada elemento puede emitir fotones, incluso a miles de longitudes de onda, pero no todas tienen la misma probabilidad de ocurrir. Generalmente se usan las que recomienda el proveedor a menos que la matriz de la muestra contenga elementos interferentes a esa longitud de onda.

5.3.6.6. (X,Y) Axial y radial

El espejo que toma la luz del plasma y la direcciona al sistema monocromador se gira con el fin de hacer un barrido axial o radial en el plasma, para encontrar la zona donde se detecte la mayor señal con el menor ruido posible. Se hace principalmente con Mn (longitud de onda 257.610 nm) leyendo una solución de 1ppm, debido a que presenta propiedades periódicas medias, de este modo, la optimización actúa para elementos de fácil excitación como para los que requieren altas energías de ionización y excitación.

5.4. Técnica analítica: Espectrometría atómica de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-MS)

5.4.1. Sistema de introducción de la muestra al ICP-MS

Funciona bajo el mismo principio que el del ICP-OES. Cuenta con una bomba peristáltica que trasporta a la muestra hasta el nebulizador. Éste genera un aerosol y la cámara de rocío clasifica las gotas según su tamaño. Manda las gruesas a los residuos y las finas a través del inyector hasta llegar al plasma que aporta la energía necesaria para la ionización (**Figura 5-9**).

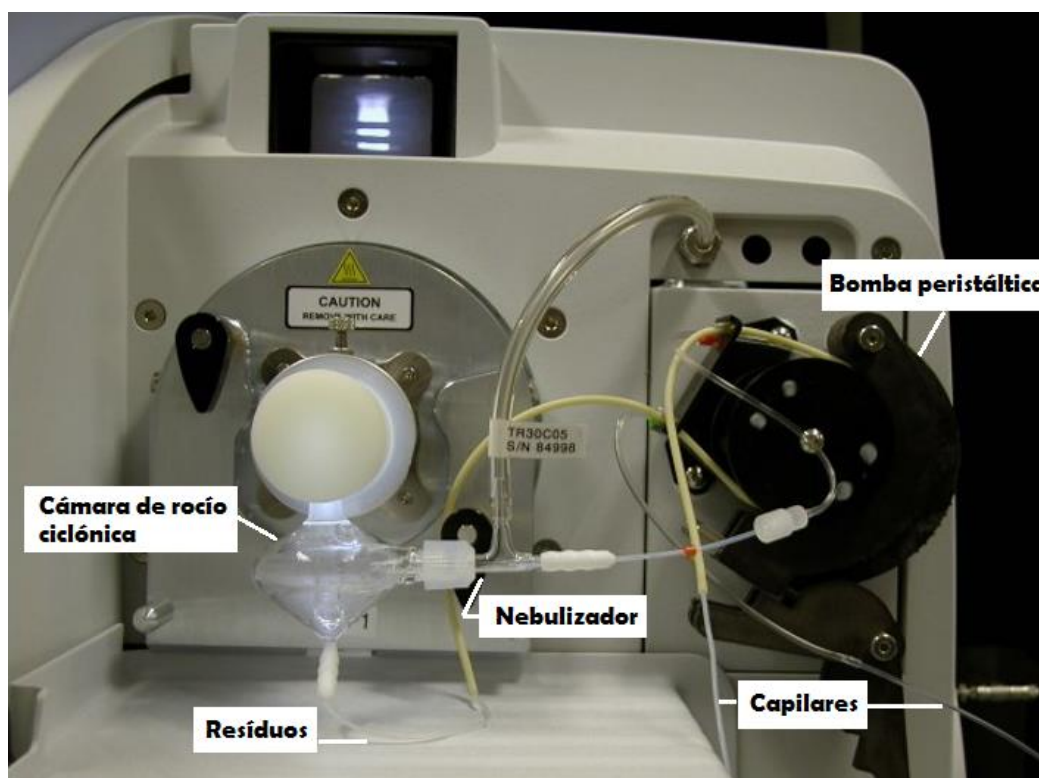


Figura 5-9 Sistema de introducción de la muestra al ICP-MS

5.4.2. Espectrómetro ICP-MS

El plasma es la fuente de energía que permite la ionización. Parte de los iones entran al espectrómetro, a través de una **interface** situada en la zona donde se generan mediante succión. Una bomba turbo molecular que hace vacío casi total (del orden de millonésimas de Torricelli), provoca que lleguen al **deflector** que, por diferencias de voltaje, elimina las

especies químicas que no estén ionizadas, y manda las cargadas positivamente a una celda (Figura 5-10). En este punto todos los iones tienen la misma energía cinética, pero cambia en el cuadrupolo que consta de dos electrodos positivos, intercalados en dos negativos. Cambian instantáneamente de polaridad. Los iones viajan a los negativos y éstos se vuelven positivos repeliéndolos hacia el siguiente que ahora los atrae. Este ciclo se repite millones de veces por segundo, y permite la separación espacial de los cationes según su masa. Las velocidades que adquieren son supersónicas siendo mayores en los ligeros. El detector, al final del cuadrupolo, recibe a los iones e integra la información cada diferencial de tiempo al que se le asocia una especie química según su relación carga-masa. Los ligeros llegan primero (9).

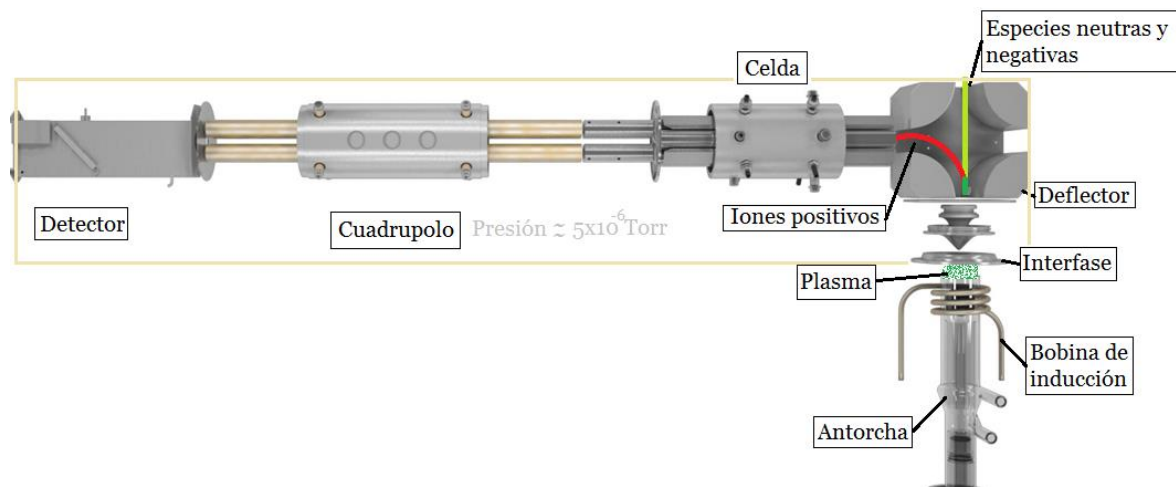


Figura 5-10 Esquema del espectrómetro de masas (Perkin Elmer).

5.4.2.1. Sistema de detección

Como consecuencia del impacto de los iones en el detector, se produce el desprendimiento de electrones (primarios) y éstos son dirigidos por una diferencia de potencial hacia otra superficie de la que se liberan electrones secundarios. Si la energía adquirida entre el impacto sucesivo es suficientemente alta habrá en promedio más de un electrón secundario liberado. Después de repeticiones suficientes de este proceso, habrá un gran número de electrones generados. El dispositivo que funciona de este modo es conocido como multiplicador de electrones y el factor de multiplicación es típicamente del orden de 10^8 . Al final del dispositivo los electrones se dirigen a un electrodo colector y la carga del pulso resultante se procesa electrónicamente por el sistema de datos del espectrómetro (9).

5.4.3. Interferencias posibles en ICP-MS

Las interferencias se generan porque existen isótopos o se forman compuestos (aductos) por las condiciones presentes en el plasma, que tienen el mismo peso que el elemento que se pretende cuantificar.

5.4.3.1. *Poliatómicas*

Las Interferencias de iones poliatómicos son el resultado de interacciones entre las especies del plasma y las de la matriz y/o la atmósfera. El argón, hidrógeno y oxígeno están en exceso, y pueden combinarse entre sí o con elementos de la matriz. La suma de los pesos de los elementos combinados iguala el peso del analito y genera la interferencia para éste (10).

5.4.3.2. *Isobáricas*

Las interferencias isobáricas ocurren porque otros elementos presentes tienen isótopos con sustancialmente la misma masa que el analito. El cuadrupolo no tiene la resolución para separar dos especies cuya masa difiera en menos de una unidad y por ello llegan juntos al detector (10).

5.4.4. Optimización básica para un ICP-MS

Existen alrededor de 24 optimizaciones del equipo como voltaje del detector, del deflector, voltaje de entrada y salida de las celdas, flujo de argón para el plasma, gas auxiliar, entre otras, cuya finalidad, en muy amplios rasgos, es variar las condiciones de operación y encontrar la mayor señal con el menor ruido posible.

Para lograr la ionización de la muestra, es necesario que exista una adecuada nebulización. Ésta, depende de la viscosidad, del flujo de argón y velocidad de la bomba peristáltica. Las gotas que se producen deben ser lo suficientemente finas para que se vaporicen, atomicen y ionicen en el plasma. Se debe regular la potencia y el flujo de argón para optimizarlo. (9)

A continuación se presenta una breve explicación de otras optimizaciones propias para esta técnica (ICP-MS) realizadas para este trabajo.

5.4.4.1. *“Autolents”*

En esta optimización se varían voltajes hasta encontrar la combinación que permita direccionar todos los iones de todo el intervalo de masas, desde la del $^9.01\text{Be}$ hasta la de $^{238.05}\text{U}$, al cuadrupolo.

5.4.4.2. *Posición de la antorcha*

Proporciona la alineación automatizada en los ejes X, Y, Z de la antorcha con respecto a la óptica de los iones. El sistema hace un barrido de 6 mm en cada una de las tres direcciones y se queda en donde encuentre la señal mayor. La interface por la que entran los iones debe quedar justo en la zona del plasma donde se producen. Generalmente esta

optimización se hace con la señal medida de $^{114.90}\text{In}$, para ello se introduce una solución con una concentración especificada de éste.

5.5. Cuantificación de concentración en ICP-MS y en ICP-OES

Para ambas técnicas la intensidad medida se efectúa en cuentas por segundo (**cps**), (fotones en ICP-OES y iones en ICP-MS). La intensidad (*I*) es proporcional a la cantidad de iones o fotones, según sea el caso, que al llegar al detector, generan una señal y ésta es proporcional a la concentración del analito.

La curva de calibración se obtiene con un grupo de disoluciones de concentración (*C*) conocida, preparadas a partir de disoluciones certificadas y con instrumentos de alta precisión (ver capítulo 6), las que se miden en los espectrómetros bajo las condiciones de operación optimizadas. Se grafica *I* en función de *C* para generar la curva de calibración a la que se asocia una ecuación lineal, la que permite la cuantificación del analito a partir de la intensidad medida.

En la **Ecuación 5-3** se observa la forma general de la ecuación de la línea con cálculo de intersección que el programa de cómputo usa para calcular la concentración de muestras con base en una curva de calibración.

$$I(\text{cps}) = b(\text{cps}) + \frac{(I_{STD2} - I_{STD1}) \text{ cps}}{(C_{STD2} - C_{STD1}) \text{ ppm, ppb, etc}} * [C] \text{ (ppm, ppb, etc)}$$

Ecuación 5-3 Cuantificación de concentración a partir de la intensidad medida en las soluciones de la curva de calibración.

donde:

$I(\text{cps}) \rightarrow$ es la intensidad medida en la muestra en cuentas por segundo.

$b(\text{cps}) \rightarrow$ es la intensidad medida en el blanco de calibración.

$I_{STD1} - I_{STD2} \rightarrow$ es la diferencia de las intensidades en unidades de cps de los estándares 1 y 2.

$C_{STD1} - C_{STD2} \rightarrow$ es la diferencia de las concentraciones correspondientes en unidades de concentración.

$C \text{ (ppm, ppb, entre otras)} \rightarrow$ es la concentración de la muestra en unidades de concentración

5.6. Verificación

Se hace con el fin de demostrar que los datos obtenidos con las técnicas analíticas usadas son confiables. Se define como la confirmación mediante el suministro objetivo de pruebas que los requisitos se cumplen (14). Las exigencias de verificación incluyen estudios de exactitud, precisión, linealidad, límite de detección, límite de cuantificación, entre otros (15).

Precisión: se define como el grado de concordancia entre resultados obtenidos cuando un método se aplica, repetidamente y desde el principio, sobre distintas porciones representativas de la muestra.

Repetibilidad: Grado de concordancia entre los resultados obtenidos cuando el método es aplicado a la misma muestra repetidas veces por un único analista. Se expresa como la desviación estándar absoluta (SD), varianza (SD^2), desviación estándar relativa (RSD) o por ciento de desviación estándar relativa (%RSD) de los resultados obtenidos. **En ambas técnicas, el respectivo programa de cómputo arroja los resultados de la SD y %RSD de la intensidad medida, como de la concentración.**

$$a) \quad SD = \sqrt{\sum(x - \bar{x})^2 / (n - 1)} \quad b) \quad RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \quad c) \quad \%RSD = \frac{SD}{\bar{x}} * 100$$

Ecuación 5-4 Cálculo de a) desviación estándar; b) desviación estándar relativa; c) % desviación estándar relativa

Exactitud: Es la desviación de la medida con respecto al valor real o verdadero. Se puede medir por medio de lecturas de muestra control. Es el resultado medido entre el esperado por cien llamado por ciento de recuperación relativo (%R) (14).

Linealidad: Es la capacidad de un método para dar respuestas relacionadas linealmente con la concentración del analito dentro de un determinado intervalo de concentraciones. Para estimar el grado con el que los datos experimentales se ajustan a una línea recta se calcula el coeficiente de correlación. Un valor de 1 corresponde a un ajuste perfecto a una línea recta, un valor de cero implica que no hay correlación lineal entre las respuestas y la concentración. También puede utilizarse el coeficiente de correlación al cuadrado. Un resultado por encima de 0.995 se considera un buen ajuste para la mayoría de los fines.

Intervalo lineal: Es el intervalo de concentraciones útil para un método analítico en el que la pendiente de la recta obtenida se mantiene constante.

Sensibilidad: Mide la capacidad de un método para distinguir pequeñas diferencias en la concentración del analito. El factor que determina la sensibilidad es la pendiente de la curva de calibración.

Límite de detección (LOD): Es la señal mínima detectable por el equipo que se distingue claramente del ruido de fondo. Se obtiene de acuerdo a la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) (16) como:

$$\text{LOD} = 3.3\text{SD}$$

Ecuación 5-5 Cálculo del límite de detección (16)

donde:

SD: es la desviación estándar de la concentración y **3.3** es un valor constante.

Límite de cuantificación (LOQ): Es la concentración mínima detectable por el método. Se obtiene también mediante múltiplos de la desviación estándar (SD).

$$\text{LOQ} = 10\text{SD}$$

Ecuación 3.2 Cálculo del límite de detección (16)

6. METODOLOGÍA

El desarrollo experimental se dividió en dos etapas principales. La primera consistió en digestión de muestras y preparación de estándares, la segunda en la optimización y lectura de muestras en ambas técnicas.

6.1. Reactivos de digestión y para técnica ICP-OES

- Ácido clorhídrico concentrado, grado analítico, 36.5 -38.0%, marca J.T. Baker
- Ácido nítrico concentrado, grado analítico, 65%, marca Suprapur®
- Ácido fluorhídrico concentrado, grado reactivo, 48%, Merk
- Agua desionizada ASTM tipo 1 (conductividad eléctrica 25° C, $0.056 \frac{\mu S}{cm}$)
- Estándar de fósforo 1000 ppm marca Perkin Elmer
- Estándar de Calcio 1000 ppm marca Perkin Elmer.
- Estándar S21 100mg/L de As, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Li, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Se, Sr, Ti, Tl, V, Zn. Perkin Elmer 5% HNO₃.
- Estándar 7 A (alcalino) 1000mg/L de K, 500 mg/L de Si, 100 mg/L de Al, B, Ba, Na, y 50 mg/L Ag, Marca Perkin Elmer.
- Argón, pureza 4.8, marca INFRA

6.2. Reactivos técnica ICP-MS

- Se usó un KIT de estándares multielementales marca PERKIN ELMER (17):
 - 1) Estándar elemental 1: matriz acuosa al 5% HNO₃. Contiene 10mg/L de Hg
 - 2) Estándar multi elemental 2: matriz acuosa al 5% HNO₃. Contiene 10mg/L de Ce, Dy, Er, Gd, Ho, La, Lu, Nd, Pr, Sc, Sm, Tb, Th, Tm, Y, e Yb.
 - 3) Estándar multi elemental 3: matriz acuosa al 5% HNO₃. Contiene 10mg/L de Ag, Al, As, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cs, Cu, Fe, Ga, In, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Rb, Se, Sr, Tl, U y Zn.
 - 4) Estándar multi elemental 4: matriz acuosa al 10% HCl y 1% HNO₃. Contiene 10mg/L de Au, Hf, Ir, Pd, Pt, Rh, Ru, Sb, Sn y Te.
 - 5) Estándar multi elemental 5: matriz H₂O/trHF/tr HNO₃. Contiene 10mg/L de B, Ge, Mo, Nb, P, Re, S, Si, Ta, Ti, W y Zr.
- Solución "Daily": contiene 10 ppb de Be, Mg, In, Ce y U. Marca PERKIN ELMER
- Argón de pureza 5.0, marca INFRA.
- Agua desionizada ASTM tipo 1 (conductividad eléctrica 25° C, $0.056 \frac{\mu S}{cm}$)

6.3. Equipo y material

- Espátula de madera
- Vasos de precipitados de 125 mL de vidrio y de teflón.
- Vidrios de reloj
- Matraces aforados de 10, 50 y 100 mL
- Piseta con agua desionizada
- Probeta 50 mL
- Micropipetas con puntas desechables de 500, 100 y 50 µL, marca Labsystems.
- Balanza analítica marca RADWAD, modelo XA 60/220/X.
- Parrilla de calentamiento.

El diagrama general de la metodología se muestra a continuación en la **Figura 6-1**:

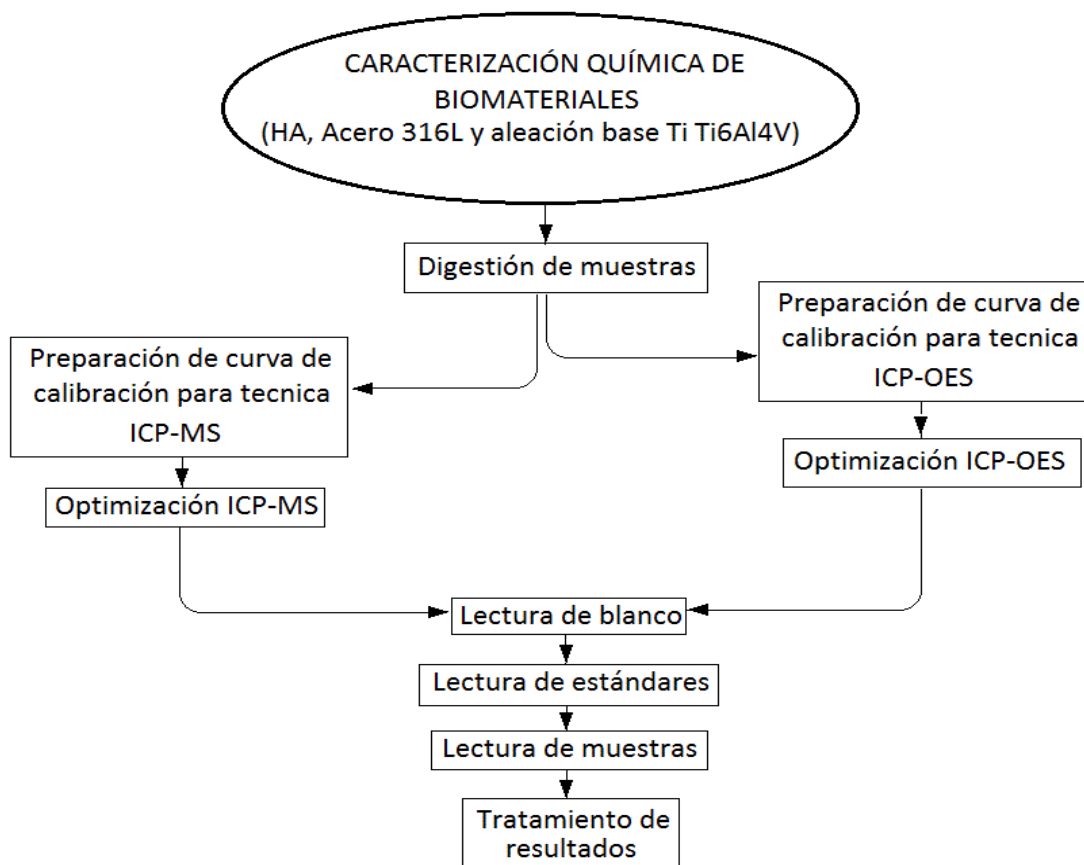


Figura 6-1 Diagrama de flujo. Metodología general

6.4. Digestión de muestras

- 4 muestras de acero inoxidable grado quirúrgico, cada una proveniente de prótesis cuyos pesos fueron inferiores a 0.2 gramos.
- 3 muestras de hidroxiapatita en polvo (HA) de aproximadamente 1 g. Los tres tipos se fabricaron con las mismas materias primas y bajo el mismo método, variando el tipo de agitación para cada Hidroxiapatita.
- 3 aleaciones base Titanio, 2 en rebaba, aproximadamente 0.5 g de cada una y una fracción de tornillo.

Debido a que la cantidad de muestra de los aceros inoxidables, como las de Titanio fueron mínimas, sólo se hizo un ensayo.

En el caso de las muestras de acero inoxidable, por la cantidad se pesó la totalidad. Se tomaron dos alícuotas (R1 y R2) de cada tipo de HA y una de cada aleación de base Titanio. Todas se pesaron en su respectivo vaso de precipitados asignado (de vidrio para las de HA, teflón para las de acero inoxidable y base titanio) y en éste mismo se digirieron. Antes del pesaje se taró la balanza y una vez medida la cantidad se procedió a la digestión. La siguiente tabla muestra la identificación de las alícuotas, el tipo de biomaterial, la descripción de la muestra original y el peso en gramos.

Identificación	Biomaterial	Descripción	Peso alícuota (g)
I1	Ac. Inoxidable grado quirúrgico	Trozo de pieza original	0.0296
I2	Ac. Inoxidable grado quirúrgico	Trozo de pieza original	0.0284
I3	Ac. Inoxidable grado quirúrgico	Trozo de pieza original	0.0312
I4	Ac. Inoxidable grado quirúrgico	Trozo de pieza original	0.1626
Ti6Al4V	Aleaciones base Titanio	Trozo de tornillo	0.0954
T1	Aleaciones base Titanio	Rebaba	0.0528
T2	Aleaciones base Titanio	Rebaba	0.0460
HA1P	Hidroxiapatita. Agitación magnética	Precipitado en polvo	R1: 0.1013 R2: 0.1003
HA1S	Hidroxiapatita. Agitación manual	Trozo de pieza original	R1: 0.1012 R2: 0.1008
HA1B	Hidroxiapatita. Agitación con uso de sonicador.	Trozo de pieza original	R1: 0.1021 R2: 0.1016

Tabla 6-1 Descripción de alícuotas analizadas y su precedente.

6.4.1. Digestión vía húmeda

El método de digestión de las muestras dependió de la naturaleza química de la matriz.

6.4.1.1. Digestión de hidroxapatita

1. Preparación de **reactivo de ataque**: en una probeta de 50 mL se mezclaron 10.0 mL de HNO₃ concentrado con 30.0 mL de HCl concentrado.
2. Se adicionaron 10.0 mL de reactivo de ataque a cada muestra y se cubrieron con un vidrio de reloj. Los 10 mL restantes se usaron para la elaboración del blanco de digestión de HA.
3. Se colocaron sobre una parrilla de calentamiento y llegaron una temperatura igual o menor a 60° hasta disolución completa, es decir, que se disolvió todo el sólido y quedó una solución translúcida (tiempo aproximado 20 minutos).
4. Se vació cada solución resultante en un matraz aforado de 100 mL.
5. Se enjuagó cada vidrio de reloj y vaso de precipitados con agua desionizada. Todos los enjuagues se vaciaron en su respectivo matraz y se aforaron con agua desionizada a 100mL.

6.4.1.2. Digestión de aceros inoxidables

1. Preparación de reactivo de ataque: en una probeta de 50 mL se mezclaron 20.0mL de HNO₃ concentrado con 60.0 mL de HCl concentrado.
2. Se adicionaron 15.0 mL de reactivo de ataque a cada muestra y se cubrieron con un vidrio de reloj. Los 15 mL restantes se usaron para la elaboración del blanco de digestión Inoxidables.
3. Calentamiento: En la parrilla de calentamiento, se puso una cama de arena y sobre ésta se colocaron los vasos de teflón para su protección. Se calentaron hasta ebullición se adicionaron tres gotas de HF concentrado. Se suspendió el calentamiento hasta que la digestión fue completa (tiempo aproximado en ebullición 10 minutos)
4. Se vació cada solución en un matraz aforado de 50 mL.
5. Se enjuagó cada vidrio de reloj y vaso de precipitados con agua desionizada. Todos los enjuagues se vaciaron en su matraz respectivo y se aforaron con agua desionizada a 50 mL.

6.4.1.3. Digestión de aleaciones base Ti

1. Preparación de reactivo de ataque: en una probeta de 50 mL se mezclaron 40.0 mL de HNO₃ concentrado con 40.0 mL de agua desionizada.
2. Se adicionaron 20.0 mL de reactivo de ataque a cada muestra. Los 20 mL restantes fueron usados para la elaboración del blanco de digestión de Ti.
3. Calentamiento: De igual forma que para los aceros inoxidables, los vasos de teflón fueron protegidos por una cama de arena y cuando inició la ebullición se les adicionaron tres gotas de HF concentrado. Permanecieron en ebullición hasta que las digestiones fueron completas (tiempo aproximado en ebullición de 40 minutos).

4. Se vaciaron las soluciones de las muestras Ti1 y Ti2 en su respectivo matraz de 50 mL y la solución Ti6Al4V en uno de 100 mL.
5. Se enjuagó cada vidrio de reloj y vaso de precipitados con agua desionizada. Todos los enjuagues se vaciaron en su matraz respectivo y se aforaron con agua desionizada.

Nota: Cada muestra generada se envasó y etiquetó inmediatamente después de su aforo.

6.5. Preparación de curva de calibración para técnica ICP- OES

Se prepararon 2 curvas diferentes: una que contiene únicamente Ca y P de 50, 100 y 200 ppm y otra de 1 y 10 ppm con los estándares S21 y 7 A , cuyos elementos contenidos se especifican en la sección 6.1 “*Reactivos de digestión y para técnica ICP-OES*”. Se hicieron 2 puntos ya que para esta técnica analítica está comprobada la linealidad. La ecuación de la curva de calibración asociada no se ve favorecida con la adición de más puntos de calibración.

6.5.1. Curva de Ca y P para técnica ICP OES

1. Estándar de 50 ppm: se adicionaron 0.5 mL de cada estándar (P y de Ca) a un matraz volumétrico de 100mL.
2. Estándar de 100 ppm: se adicionó 1.0 mL de cada estándar (P y de Ca) a un matraz volumétrico de 100mL.
3. Estándar de 200 ppm: se adicionaron 2.0 mL de cada estándar (P y de Ca) a un matraz volumétrico de 100mL.
4. Cada uno de éstos se aforo con agua desionizada, se envasó en un frasco de plástico nuevo y se etiquetó.

6.5.2. Curva S21 + 7 A para técnica ICP OES

1. Estándar de 1 ppm: se adicionó 1.0 mL de cada estándar (S21 y 7 A) a un matraz volumétrico de 100mL.
2. Estándar de 10 ppm: se adicionó 1.0 mL de cada estándar (S21 y 7 A) a un matraz volumétrico de 10mL.
3. Cada uno de éstos se aforo con agua desionizada, se envasó en un frasco de plástico nuevo y se etiquetó.

Para ambas curvas se usó agua desionizada como blanco de calibración.

6.6. Preparación de curva de calibración para técnica ICP- MS

Se preparó una curva de calibración de 1, 5, 10 y 50 ppb del total de elementos que incluye el KIT de estándares Perkin Elmer cuya composición se especifica en la sección 6.2 “*Reactivos técnica ICP-MS*”. Se preparó una disolución intermedia de 200 ppb adicionando 0.1 mL de cada estándar del KIT (1, 2, 3, 4 y 5) y se aforó a 50 mL con agua desionizada.

6.7. Técnica ICP-OES

6.7.1. Descripción del equipo usado para la técnica ICP-OES

El equipo utilizado para esta técnica fue un ICP-OES Optima 400 DV, marca Perkin Elmer con detector SCD, antorcha de cuarzo y bobina de radiofrecuencia de cobre. El sistema de introducción de la muestra consta de una bomba peristáltica con tres canales, capilares de silicón, nebulizador “*Gem Cone*”², cámara de rocío ciclónica e inyector de alúmina de 2 mm de diámetro. El equipo es operado mediante el programa de cómputo “*Win Lab32 5.2.0.0612*”.

Debido a que el detector es un superconductor se requiere que opere a una temperatura de -40°C el encendido del equipo tarda alrededor de 4 horas.

La rutina fue verificar que haya una presión de entrada de argón de 80 psi, encender recirculador, extractor, el equipo, por último el programa de cómputo y esperar a que el detector se encuentre a -40°C. Ocurrido esto se enciende el plasma y después de 10 minutos de acondicionamiento se procede a la optimización.

6.7.2. Optimización ICP-OES

6.7.2.1. Flujo de nebulizador y potencia

Para ambos parámetros se aspiró el estándar de 1 ppm S21 + 7 A y en la opción “*continuous*”³ se monitoreó el cambio de señal para el Mn (a 257.610 nm de longitud de onda, λ) con respecto al cambio de flujo de nebulización. El flujo de nebulizador óptimo se estableció cuando se mostró la mayor señal de Mn y ésta permaneció constante con respecto al tiempo. Se varió del mismo modo la potencia, se estableció el valor óptimo siguiendo el mismo criterio con la señal de Mn.

² Gem Cone: nombre patentado para el nebulizador que usa un **cono de gema** para cumplir su función.

³ CONTINUOUS: Herramienta que ofrece el programa de cómputo. Permite observar en tiempo real la señal que recibe el detector para uno o varios analitos. Su significado en español es continuo.

6.7.2.2. **Posición de la antorcha**

Esta optimización está automatizada. Se aspira el estándar de 1 ppm S21 + 7 A y el equipo hace un barrido en el plano axial al plasma para localizar la zona donde encuentra la mayor señal con el menor ruido posible. La posición encontrada fue (0.0, 15.0) mm.

La posición del “casete”⁴ en el ICP-OES, velocidad de bomba peristáltica, flujo de Ar para plasma y gas auxiliar fueron los que recomienda el proveedor para ambas técnicas (-0.3, 2mL/min y 16L/min, respectivamente).

6.7.3. **Lectura de muestras en ICP-OES**

Se indicó en el método los elementos a cuantificar y las concentraciones de los estándares. Se calibró y se analizó cada muestra digerida. Los capilares se lavaron con agua desionizada entre muestra y muestra. Para la técnica ICP-OES se cuantificaron los elementos que contienen los estándares S21, 7 A y P (29 elementos totales **los cuales se indican en la sección 6.1**). La lectura fue, por tratarse de elementos mayoritarios, en **modo radial** para todos los elementos, 3 réplicas y longitudes de onda recomendadas por el proveedor.

6.7.4. **Estudio espectral para la técnica ICP-OES**

Este estudio es suma de importancia para determinar si el resultado es confiable. Se revisó cada espectro óptico. Se comparó el de un estándar contra los de los blancos de digestión y de calibración con el fin de detectar si la matriz generó alguna interferencia espectral. Sí los ácidos de digestión presentan un pico en la longitud de onda estudiada, significa que aportaron parte de la señal que corresponde a la muestra y se debe restar en tales casos. Los ejemplos representativos de los espectros se muestran en las **Figuras 7-7 a 7-10**.

⁴ Casete: parte del espectrómetro ICP-OES que controla la posición de la antorcha con respecto a la bobina de inducción.

6.7.5. Verificación de la técnica ICP-OES.

1. **Precisión:** Se reportó el %RSD de la concentración de las muestras leídas para cada analito.
2. **Exactitud:** Debido a que no se contó con una muestra certificada de biomateriales, se leyó como muestra el estándar de 1ppm y se calculó el % de recuperación relativo (%R) (14).
3. **Linealidad:** El programa de cómputo arroja el resultado del coeficiente de correlación para cada curva de calibración.
4. **LOD y LOQ** Se leyó el blanco de calibración usado en la técnica. El programa de cómputo proporciona la SD de la concentración. Se multiplicó la SD de la concentración por 3.3 y por 10 para calcular el LOD y el LOQ respectivamente.

6.8. Técnica ICP-MS

El equipo empleado para esta técnica fue un “Nex Ion 300 D” de la marca *Perkin Elmer* que cuenta con celda de colisión KED y celda de reacción DRC. Antorcha de cuarzo y bobina de radiofrecuencia de cobre. El equipo es operado mediante el programa de cómputo “Nex ION”. El sistema de introducción de la muestra consta de bomba peristáltica con tres canales, nebulizador concéntrico, cámara de rocío ciclónica con bafle, inyector de cuarzo de 1.2mm y conos de níquel.

Rutina de encendido: Verificar que haya una presión de entrada de argón de 90 psi, encender el recirculador, extractor, el equipo, abrir el programa de cómputo y por último el vacío (en ese orden). Éste tarda aproximadamente 7 minutos en llegar al nivel requerido (1×10^{-5} Torr). Ocurrido esto se encendió el plasma y después de 10 minutos de acondicionamiento se procede a la optimización.

6.8.1. Optimización ICP-MS

Las modificaciones de condiciones de operación para esta técnica se hicieron mediante el programa de cómputo, excepto la posición del nebulizador con respecto a la cámara de rocío, que se hace manualmente. Las optimizaciones hechas se describen a continuación:

6.8.1.1. Posición del nebulizador

Se aspiró la solución “Daily”⁵ Se monitoreó el cambio de señal del $^{114.90}\text{In}$ con el cambio de posición del nebulizador con respecto a la cámara de rocío. La posición óptima fue donde se alcanzó la máxima señal.

6.8.1.2. “Daily Performance Check”

Esta optimización la hace el sistema al dar la orden mediante el programa de cómputo, aspirando la solución “Daily”. En esta prueba se verifica la sensibilidad en tres diferentes

⁵ “DAILY”: Solución marca Perkin Elmer que contiene una concentración de 10 ppb de Be, Mg, In, U y Ce.

masas: baja, media y alta. Esto indica si el sistema de detección, la alineación de la antorcha y el nebulizador están configurados correctamente. Detecta si existe ruido de fondo midiendo en masas que ningún elemento posee. Indica si el flujo de nebulización es adecuado midiendo la cantidad de óxidos de cerio. Por último si la combinación de potencia con el flujo de nebulizador es correcta cuando mide el Ce^{2+} . Los criterios para determinar si el equipo pasa la prueba o no se muestran en la **Figura 6-2**

Criterio				
		Analito	Comparación	Objetivo
1	<input checked="" type="checkbox"/>	Be 9.0122	>	2000
2	<input checked="" type="checkbox"/>	Mg 23.985	>	15000
3	<input checked="" type="checkbox"/>	In 114.904	>	40000
4	<input checked="" type="checkbox"/>	U 238.05	>	30000
5	<input type="checkbox"/>	CeO 155.9	>	0
6	<input type="checkbox"/>	Ce 139.905	>	0
7	<input type="checkbox"/>	Ce++ 69.9527	>	0
8	<input checked="" type="checkbox"/>	Bkgd 220	<=	1
9	<input checked="" type="checkbox"/>	CeO 155.9/Ce 139.905	<=	0.025
10	<input checked="" type="checkbox"/>	Ce++ 69.9527/Ce 139.905	<=	0.03

Figura 6-2 Criterio para determinar si pasa la prueba "Daily" (tomada del programa de cómputo en operación)

La **Figura 6-2** muestra los criterios para determinar si el equipo pasa la prueba o se necesita hacer modificaciones en las condiciones de operación. Indica cuál es la señal mínima que se debió haber leído durante la prueba de ${}^{9.0122}\text{Be}$ y ${}^{23.985}\text{Mg}$ como representantes de las especies de masa bajas a medias e ${}^{114.904}\text{In}$ y ${}^{230.05}\text{U}$ de masas medias a altas. En caso de que la señal sea inferior a la requerida se debe hacer modificaciones en la configuración del sistema de detección, con el espectrómetro, la posición de la antorcha y la posición del nebulizador.

La señal del ruido de fondo (Bkgd), las relaciones de CeO y Ce^{2+} , con respecto a la señal del ${}^{139.905}\text{Ce}$, máximas permisibles verificar el ruido y el flujo de nebulización.

6.8.1.3. Alineación de la antorcha

Para esta optimización se aspiró la solución "Daily" y mediante el programa de cómputo se instruyó al equipo para que realizara la optimización. El objetivo es situar la zona del plasma donde se produce la mayor cantidad de iones en el orificio del cono muestreador.

6.8.1.4. "Autolents"

Se aspiró la solución "Daily" y mediante el programa de cómputo se instruyó al equipo para que realice la optimización. Esta optimización consiste en lograr que todos los iones, desde los ligeros hasta los pesados, entren al espectrómetro, para ello el equipo varía voltajes para centrarlos en una zona previa al cuadrupolo.

6.8.2. Lectura de muestras en ICP MS

Se indicó en el método los elementos a cuantificar y las concentraciones de los estándares. Se calibró y se analizó cada muestra digerida. Se cuidó que los capilares se lavaran con agua desionizada entre muestras.

Para la técnica ICP-MS se leyeron solo los elementos considerados potencialmente tóxicos en las masas recomendadas por el proveedor del equipo (PerKin Elmer Inc.): As, U, Pb, Hg, Cd y Se. Con 20 barridos de 50 milisegundos, 3 réplicas.

6.8.3. Verificación de técnica ICP-MS

Precisión: Se reportó el %RSD de la concentración de las muestras leídas para cada analito.

Exactitud: Debido a que no se contó con una muestra certificada de biomateriales, se leyó como muestra el estándar de 10 ppb y se calculó el % de recuperación relativo.

Linealidad: El programa de cómputo arroja el resultado del coeficiente de correlación para cada curva de calibración.

LOD y LOQ Se leyó el blanco de calibración usado en la técnica. El programa de cómputo proporciona la SD de la concentración. Se multiplicó la SD de la concentración por 3.3 y por 10 para calcular el LOD y el LOQ respectivamente.

7.RESULTADOS

Mediante los procedimientos de digestión seguidos para cada tipo de muestra, las soluciones resultantes fueron traslúcidas lo que significa que se digirieron completamente.

7.1. Condiciones de operación óptimas para ICP-OES e ICP-MS

Las condiciones de operación de los quipos donde se encontró mayor intensidad con el menor ruido se muestran en la **tabla 7-1**:

Condiciones	ICP- OES	ICP-MS
Flujo de Ar para plasma	15 L/min	18 L/min
Flujo de Ar para gas auxiliar	0.2 L/min	1.2 L/min
Flujo de Ar para nebulizar	0.5 L/min	0.87 L/min
Potencia	1300 W	1600 W
Flujo de bomba peristáltica	2 mL/min	1 mL/min
Posición de la antorcha (x,y,z)	0.0, 15.0 mm	-1.11, 0.31, 0
Voltaje del deflector	-----	-8.5

Tabla 7-1 Condiciones de operación para las técnicas ICP-OES e ICP MS

7.2. Resultados para verificar el comportamiento de la disolución “Daily performance check”

La **Tabla 7-2** muestra los resultados para la optimización “Daily Performance Check”.

Analito	Masa	Intensidad medida	SD Intensidad medida	%RSD intensidad medida
Be	9.0	5753.3	53.752	0.9
Mg	24.0	45892.0	816.977	1.8
In	114.9	63819.0	817.904	1.3
U	238.1	39317.6	188.356	0.5
CeO	155.9	1472.7	0.000	0.7
Ce	139.9	70197.6	267.757	0.4
Ce++	70.0	1057.4	0.000	2.3
Bkgd	220.0	0.4	0.274	74.7

Tabla 7-2 Resultados de optimización “Daily”

7.3. Técnica ICP-OES

En esta sección se muestran los resultados más relevantes de la metodología de análisis: calibración, análisis espectral y concentraciones en las muestras así como los puntos de verificación de la técnica analítica ICP OES considerados, que fueron: precisión, exactitud, linealidad, límites de detección y de cuantificación.

7.3.1. Calibración ICP OES

A continuación se muestran los ejemplos de curvas de calibración de algunos analitos cuantificados por la técnica ICP-OES (**Figuras 7-1 a 7-5**), donde en el eje axial se grafica la intensidad medida en esa longitud de onda, contra (eje horizontal) la concentración de los estándares. Se observan pocos puntos de calibración, debido a que se tenían datos previos que aseguran la linealidad de la técnica. Las figuras son tomadas directamente del programa de cómputo de operación "WinLab32".

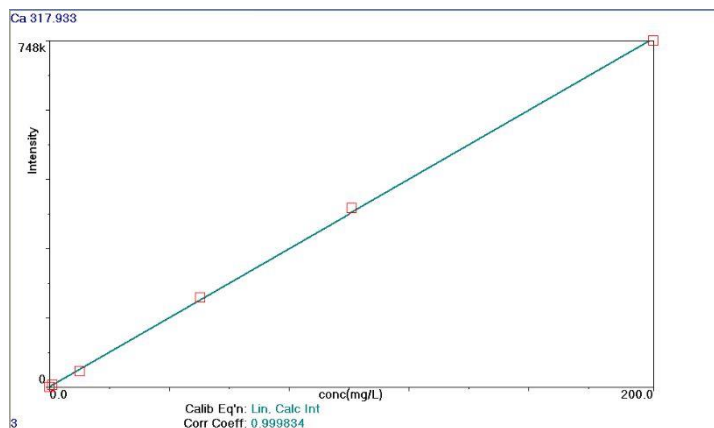


Figura 7-1 Curva de calibración de Ca, (317.933 nm) en ICP-OES

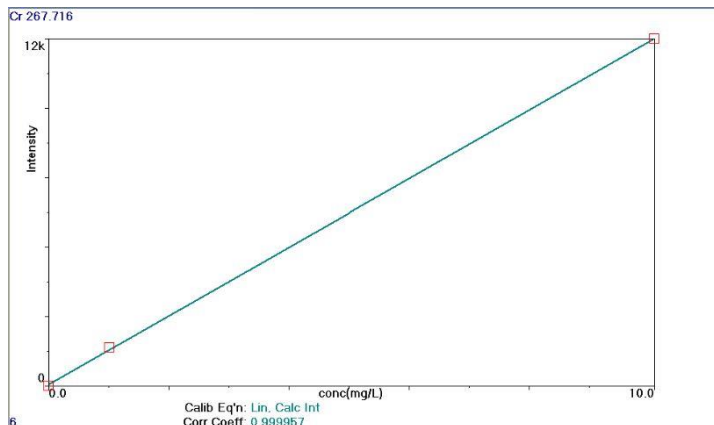


Figura 7-2 Curva de calibración de Cr, (267.716 nm) en ICP-OES

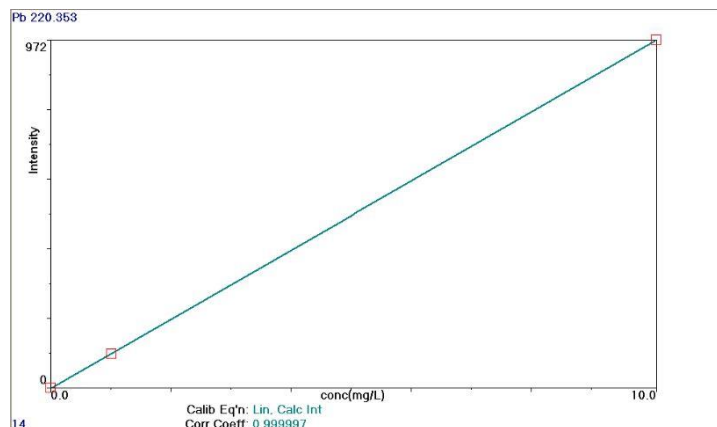


Figura 7-3 Curva de calibración de Pb, (220.353 nm) en ICP-OES

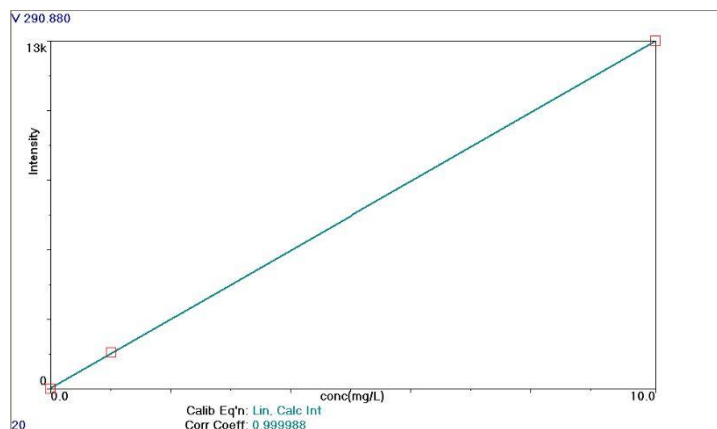


Figura 7-4 Curva de calibración de V, (290.880 nm) en ICP-OES

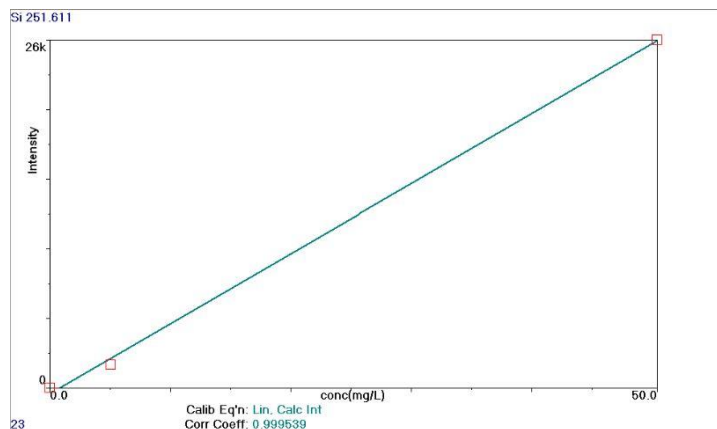


Figura 7-5 Curva de calibración de Si, (251.611 nm) en ICP-OES

En todas las curvas de calibración se reporta el coeficiente de correlación, la longitud de onda, el analito, unidad de calibración y el modelo lineal. Los cuadros indican la lectura del estándar y la línea la tendencia del modelo matemático.

A continuación se muestran los espectros de los elementos que son convenientes reportar debido a que arrojan información sobre interferencias, contaminación o que son útiles para la comparación de técnicas.

En las **Figuras 7-6 a 7-10** se observa en color amarillo el espectro del blanco de calibración, de rojo, el espectro correspondiente al estándar de calibración de 1ppm y los espectros de los blancos de digestión. Del lado derecho está la acotación que indica el color respectivo de cada espectro para cada blanco.

Se observa en las figuras que los picos de intensidad se sitúan todos en la misma longitud de onda para cada imagen por lo que se descarta la existencia de interferencias del tipo espectral.

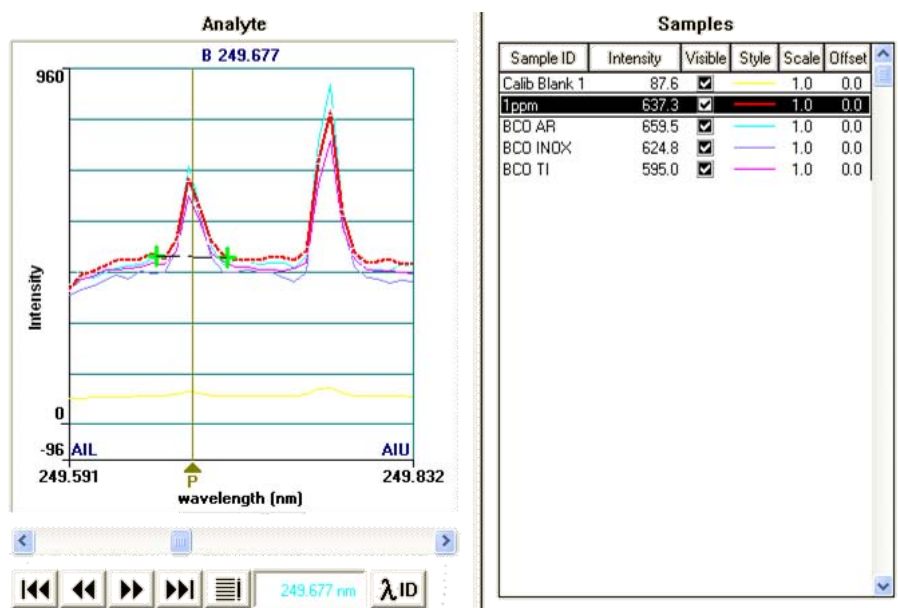


Figura 7-6 Espectro de B (249.677nm) para los blancos de digestión y blanco de calibración.

Los espectros para el Fe y Ca mostraron el mismo comportamiento: Presencia constante de analito en todos los blancos de digestión cercana a la intensidad del estándar de 1 ppm.

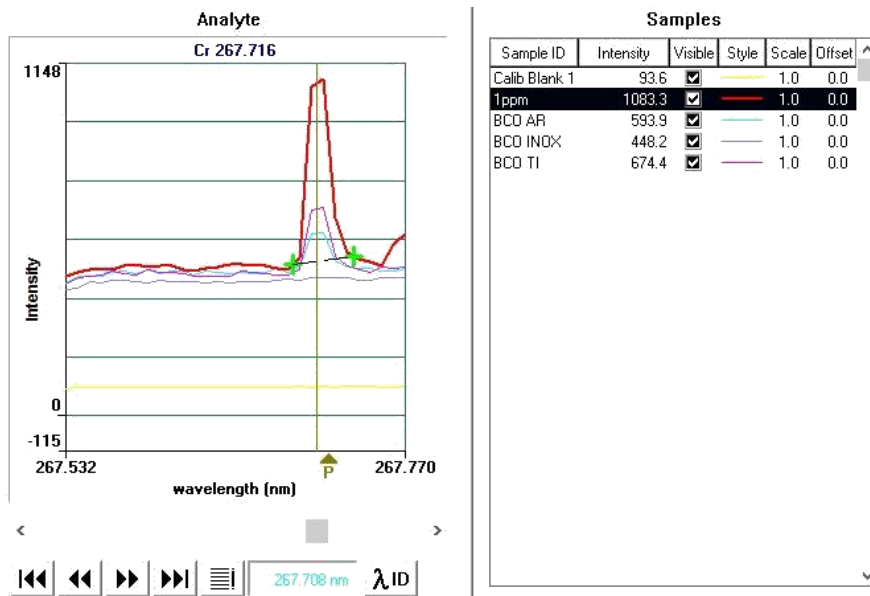


Figura 7-7 Espectro de Cr (267.716 nm) para los blancos de digestión y blanco de calibración.

Los espectros de K, Mg, Ni, Ti, Zn, Ba, Co, Mn, Al y Ag mostraron las mismas características: intensidades en blancos de digestión superior al blanco de calibración y menor al pico de una parte por millón. La forma de meseta es debido a que en ese intervalo de longitudes de onda, la señal enviada del detector fue muy ruidosa, es decir, tuvo altibajos notorios y el programa de cómputo presenta el comportamiento promedio.

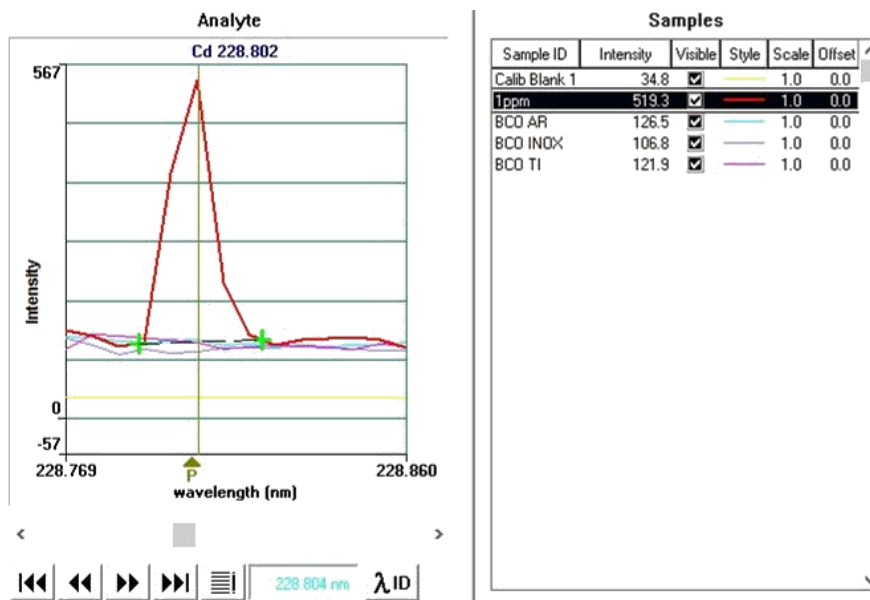


Figura 7-8 Espectro de Cd (228.802 nm) para los blancos de digestión y blanco de calibración.

Los espectros de Li, Cu, Be, V, Pb, Sb, Mo y Sr mostraron el mismo comportamiento: no se observan picos en la longitud de onda del analito, aún a pesar del ruido.

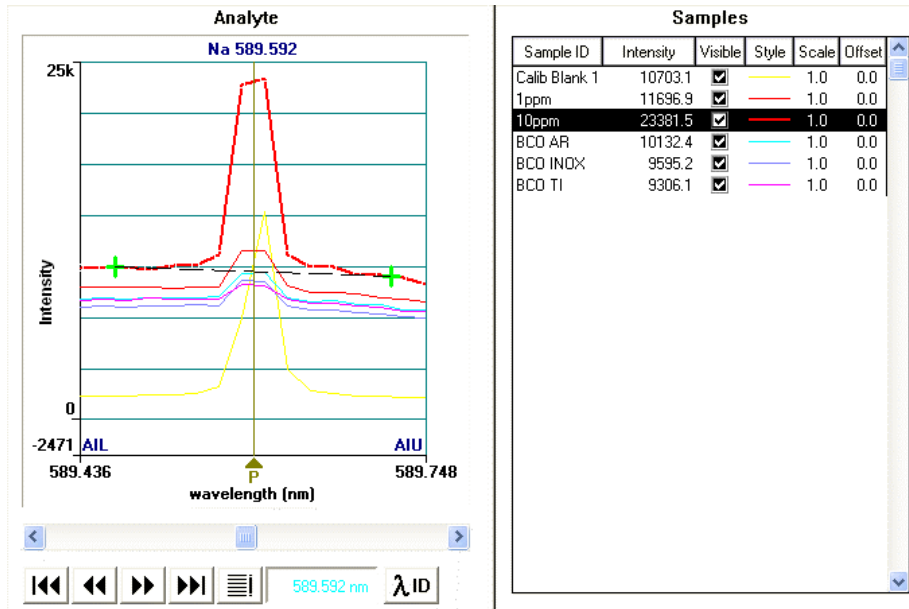


Figura 7-9 Espectro de Na (589.592 nm) para los blancos de digestión y blanco de calibración

Intensidad de blanco superior a primer punto de calibración. Los espectros que mostraron el mismo comportamiento son los de Se y TI.

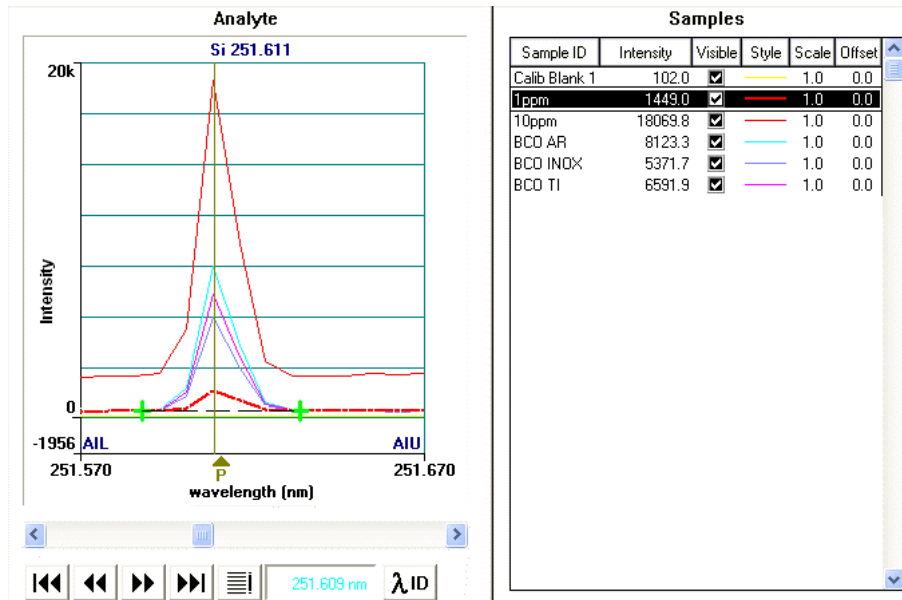


Figura 7-10 Espectro de Si (251.611 nm) para los blancos de digestión y blanco de calibración

La intensidad de todos los blancos de digestión son superiores a la intensidad del estándar de 1 ppm e inferiores a la de estándar de 10 ppm.

7.3.2. Concentraciones encontradas en las muestras por la técnica ICP-OES

En esta sección se reportan los elementos encontrados en cada muestra analizada. Cada tabla pertenece a una muestra diferente, contiene en la primera columna los elementos encontrados y su respectiva longitud de onda. La segunda columna reporta la intensidad medida en cuentas por segundo de cada analito para esa muestra. En la tercera el %RSD de la concentración medida. La cuarta la desviación estándar de cada lectura en mg/L. La quinta presenta la concentración de cada analito en la solución, seguido, la concentración del sólido y por último el valor en porcentaje peso/peso. Las **Ecuaciones 7-1 y 7-2** se usaron para calcular la concentración del analito en la muestra sólida en mg/Kg y % peso, respectivamente, a partir de la concentración encontrada en la solución mediante la técnica analítica.

$$\text{Concentración en } \frac{\text{mg}}{\text{Kg}} = X \frac{\text{mg}}{\text{L}} * \frac{\text{Vol de solución muestra (L)}}{\text{Y g de muestra}} * \frac{1000 \text{ g de muestra}}{1 \text{ kg de muestra}}$$

Ecuación 7-1 Cálculo para encontrar la concentración en mg/Kg en el sólido

donde:

X → Es la concentración medida en la solución para cualquier analito en mg de analito por litro de solución (mg/L), ppm peso volumen

Y → Es la cantidad de muestra pesada en gramos.

Vol → Es el volumen de aforo en mL.

El cálculo para pasar de mg/kg a % peso es el siguiente:

$$\% \text{ peso} = x \frac{\text{mg}}{\text{Kg}} * \frac{1 \text{ g analito}}{1000 \text{ mg analito}} * \frac{1 \text{ kg muestra}}{1000 \text{ g muestra}} * 100$$

Ecuación 7-2 Cálculo para sacar la concentración en por ciento en peso

donde:

X → Es la concentración en **mg** de analito por **Kg** de solución

Hidroxiapatita con agitación magnética 1 (HA1P1)						
Elemento, λ (nm)	Intensidad (c/s)	RSD (Concentración)	SD (mg/L)	Concentración de solución (mg/L)	Concentración de la muestra (mg/kg)	% Peso
Ca 317.933	1219338.93	0.675	2.188	323.96	319801.49	31.98
P 213.617	6122.38	1.014	1.483	146.78	144894.98	14.49

Tabla 7-3 Elementos y su concentración encontrados en HA con agitación magnética (HA1P1)

Hidroxiapatita con agitación magnética 2 (HA1P2)						
Elemento, λ (nm)	Intensidad (c/s)	RSD (Concentración)	SD (mg/L)	Concentración de solución (mg/L)	Concentración de la muestra (mg/kg)	% Peso
Ca 317.933	1191053.92	1.029	3.261	316.43	315487.88	31.55
P 213.617	5911.98	0.500	0.706	141.75	141329.31	14.13

Tabla 7-4 Elementos y su concentración encontrados en HA con agitación magnética (HA1P2)

Hidroxiapatita con agitación manual 1 (HA1S1)						
Elemento, λ (nm)	Intensidad (c/s)	RSD (Concentración)	SD (mg/L)	Concentración de solución (mg/L)	Concentración de la muestra (mg/kg)	% Peso
Ca 317.933	1278723.72	1.093	3.718	339.76	335728.105	33.57
P 213.617	6505.90	0.595	0.925	155.94	154089.703	15.41

Tabla 7-5 Elementos y su concentración encontrados en HA con agitación manual (HA1S1)

Hidroxiapatita con agitación manual 2 (HA1S2)						
Elemento, λ (nm)	Intensidad (c/s)	RSD (Concentración)	SD (mg/L)	Concentración de solución (mg/L)	Concentración de la muestra (mg/kg)	% Peso
Ca 317.933	1247273.88	1.539	5.105	331.39	324892.50	32.49
P 213.617	6323.80	1.573	2.376	151.59	148617.16	14.86

Tabla 7-6 Elementos y su concentración encontrados en HA con agitación manual (HA1S2)

Hidroxiapatita con agitación ultrasónica 1 (HA1B1)						
Elemento, λ (nm)	Intensidad (c/s)	RSD (Concentración)	SD (mg/L)	Concentración de solución (mg/L)	Concentración de la muestra (mg/kg)	% Peso
Ca 317.933	1287289.95	1.387	4.751	342.04	335000.67	33.50
P 213.617	6374.49	0.861	1.310	152.80	149657.31	14.97
B 249.677	353.37	0.948	0.005	0.75	738.15	0.07

Tabla 7-7 Elementos y su concentración encontrados en HA con agitación ultrasónica (HA1B1)

Hidroxiapatita con agitación ultrasónica 2 (HA1B2)						
Elemento, λ (nm)	Intensidad (c/s)	RSD (Concentración)	SD (mg/L)	Concentración de solución (mg/L)	Concentración de la muestra (mg/kg)	% Peso
Ca 317.933	1377481.32	1.477	5.413	366.03	360264.75	36.03
P 213.617	6861.78	0.042	0.069	164.44	161849.28	16.18

Tabla 7-8 Elementos y su concentración encontrados en HA con agitación ultrasónica (HA1B2)

Acero inoxidable 1 (I1)						
Elemento, λ (nm)	Intensidad (c/s)	RSD (Concentración)	SD (mg/L)	Concentración de solución (mg/L)	Concentración de la muestra (mg/kg)	% Peso
Cr 267.716	121397.47	2.302	2.336	101.43	171335.91	17.13
Cu 327.393	5964.04	0.553	0.017	3.09	5220.92	0.52
Mn 257.610	37772.61	2.627	0.176	6.64	11214.07	1.12
Ni 231.604	20100.43	0.959	0.472	49.17	83064.63	8.31

Tabla 7-9 Elementos y su concentración encontrados en acero inoxidable 1 (I1)

Acero inoxidable 2 (I2)						
Elemento, λ (nm)	Intensidad (c/s)	RSD (Concentración)	SD (mg/L)	Concentración de solución (mg/L)	Concentración de la muestra (mg/kg)	% Peso
Cr 267.716	101801.84	1.331	1.133	85.05	149736.65	14.97
Cu 327.393	3004.77	2.196	0.035	1.53	2697.83	0.27
Mn 257.610	48457.52	0.735	0.063	8.53	15025.75	1.50
Mo 202.031	1275.50	1.832	0.202	11.12	19574.24	1.96
Ni 231.604	20400.42	2.209	1.104	49.91	87867.77	8.79

Tabla 7-10 Elementos y su concentración encontrados en acero inoxidable 2 (I2)

Acero inoxidable 3 (I3)						
Elemento, λ (nm)	Intensidad (c/s)	RSD (Concentración)	SD (mg/L)	Concentración de solución (mg/L)	Concentración de la muestra (mg/kg)	% Peso
Cr 267.716	130618.18	1.490	1.627	109.14	174901.69	17.49
Cu 327.393	5052.21	0.847	0.023	2.61	4183.64	0.42
Mn 257.610	41622.85	1.106	0.082	7.32	11733.82	1.17
Mo 202.031	192.07	5.831	0.097	1.75	2803.61	0.28
Ni 231.604	21545.82	0.656	0.346	52.71	84477.35	8.45
Al 396.153	1209.59	6.221	0.202	3.39	5434.01	0.54

Tabla 7-11 Elementos y su concentración encontrados en acero inoxidable 3(I3)

Acero inoxidable 4 (I4)						
Elemento, λ (nm)	Intensidad (c/s)	RSD (Concentración)	SD (mg/L)	Concentración de solución (mg/L)	Concentración de la muestra (mg/kg)	% Peso
Cr 267.716	556446.57	0.326	1.519	465.10	143019.16	14.30
Cu 327.393	16019.47	1.395	0.118	8.39	2578.78	0.26
Mn 257.610	266609.81	1.654	0.783	47.24	14527.32	1.45
Mo 202.031	7012.08	0.683	0.414	60.72	18672.87	1.87
Ni 231.604	112506.53	1.886	5.196	275.47	84707.16	8.47

Tabla 7-12 Elementos y su concentración encontrados en acero inoxidable 4 (I4)

Elemento, λ (nm)	Intensidad (c/s)	%RSD (Concentración)	SD (mg/L)	Concentración de solución (mg/L)	Concentración de la muestra (mg/kg)	% Peso
V 290.880	44581.09	1.987	3.594	33.41	35342.07	3.53
Al 396.153	22366.42	2.29	11.596	60.06	63525.68	6.35

Tabla 7-13 Elementos y su concentración encontrados en aleación base Ti (Ti6Al4V)

Sólo se citaron los resultados cuyas concentraciones resultaron mayor a cero y presentaron un %RSD menor a 10. Se restó lo que aportaron los blancos de digestión.

7.3.3. Verificación de la metodología en ICP OES

Precisión: El criterio de aceptación fue: %RSD menor a 10. En las **Tablas 7-3 a 7-13** únicamente aparecen reportadas las lecturas cuyo %RSD es menor a 10.

Exactitud: La **Tabla 7-14** contiene los resultados de la concentración de soluciones usadas en la calibración. Para determinar la exactitud del método se calculó el % de recuperación relativo (%R), el criterio de aceptación que se tomó para este estudio fue: %R mayor que 90% y menor que 110% (**90 < %R < 110%**). En negritas se observan los elementos aceptados y tenues los rechazados.

Elemento, λ (nm)	\bar{x} (n=10)	SD n=10	%R n=10
As 188.979	9.79	0.08	97.92
Be 313.107	9.62	0.05	96.22
Ca 317.933	9.30	0.06	93.04
Cd 228.802	9.34	0.05	93.42
Co 228.616	9.49	0.05	94.93
Cr 267.716	9.53	0.05	95.27
Cu 327.393	9.72	0.04	97.25
Fe 238.204	9.84	0.07	98.41
Li 670.784	8.96	0.14	89.57
Mg 285.213	9.22	0.05	92.20
Mn 257.610	9.60	0.05	96.01
Mo 202.031	9.23	0.05	92.26
Ni 231.604	9.71	0.05	97.15
Pb 220.353	9.53	0.05	95.34
Sb 206.836	9.33	0.05	93.34
Se 196.026	9.47	0.06	94.72
Sr 407.771	8.87	0.06	88.72
Ti 334.940	9.54	0.05	95.39
Tl 190.801	9.18	0.06	91.80
V 290.880	9.45	0.05	94.54
Zn 206.200	9.25	0.05	92.46
K 766.490	114.30	1.15	228.59
Si 251.611	13.15	0.07	131.48
Al 396.153	17.10	0.53	171.01
B 249.677	10.74	0.06	107.36
Ba 233.527	15.04	0.12	150.44
Na 589.592	12.15	0.18	121.47
Ag 328.068	0.86	0.00	17.14

Tabla 7-14 Estimación de la exactitud de la metodología en ICP-OES

Linealidad: La **Tabla 7-15** contiene el elemento analizado, la longitud de onda considerada y el respectivo coeficiente de correlación lineal de la curva de calibración. El criterio de aceptación usado en este estudio fue: coeficiente de correlación mayor o igual a 0.995.

Elemento	Longitud de onda (nm)	Coefficiente de correlación	Elemento	Longitud de onda (nm)	Coefficiente de correlación	Elemento	Longitud de onda (nm)	Coefficiente de correlación
As	188.978	0.999	Mg	285.213	0.999	Pb	220.353	0.999
Be	313.107	0.999	Fe	238.204	0.999	Ti	334.940	0.999
Ca	317.933	0.999	Mn	257.610	0.999	Sb	206.836	0.999
Co	228.616	0.999	Li	670.784	0.999	V	290.880	0.999
Cd	228.802	0.999	Mo	202.031	0.999	Zn	206.200	0.999
Cr	267.716	0.999	Ni	231.605	0.999	Si	251.611	0.999
Cu	327.393	0.999	Sr	407.771	0.999	K	766.490	0.999
Al	396.153	0.999	Be	249.677	0.999	Ba	233.527	0.999
Ag	328.068	0.999	P	213.617	0.999			

Tabla 7-15 Resumen: Coeficiente de correlación para las curvas de calibración en ICP OES

LOD y LOQ: A continuación se reporta en la **Tabla 7-16** el límite de detección y el límite de cuantificación para la técnica ICP-OES a partir de la lectura del blanco de calibración como muestra.

Elemento, λ (nm)	SD (mg/L)	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)	Elemento, λ (nm)	SD (mg/L)	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)
As 188.979	0.316	1.04	3.16	Sb 206.836	0.147	0.49	1.47
Be 313.107	0.002	0.01	0.02	Se 196.026	3.617	11.94	36.17
Ca 317.933	0.015	0.05	0.15	Sr 407.771	0.003	0.01	0.03
Cd 228.802	0.036	0.12	0.36	Ti 334.940	0.002	0.01	0.02
Co 228.616	0.185	0.61	1.85	Tl 190.801	2.334	7.70	23.34
Cr 267.716	0.003	0.01	0.03	V 290.880	0.007	0.02	0.07
Cu 327.393	0.017	0.06	0.17	Zn 206.200	0.021	0.07	0.21
Fe 238.204	0.013	0.04	0.13	K 766.490	0.106	0.35	1.06
Li 670.784	0.014	0.05	0.14	Si 251.611	0.031	0.10	0.31
Mg 285.213	0.005	0.02	0.05	Al 396.153	0.359	1.18	3.59
Mn 257.610	0.012	0.04	0.12	B 249.677	0.107	0.35	1.07
Mo 202.031	0.231	0.76	2.31	Ba 233.527	0.021	0.07	0.21
Ni 231.604	0.016	0.05	0.16	Na 589.592	0.084	0.28	0.84
Pb 220.353	0.069	0.23	0.69	Ag 328.068	0.006	0.02	0.06

Tabla 7-16 Límite de detección LOD y límite de cuantificación LOQ en ICP-OES

7.4. Resultados para técnica ICP-MS

En esta sección se muestran los resultados más relevantes de la metodología de análisis: calibración, análisis espectral y concentraciones en las muestras así como también los mismos puntos de verificación considerados para la técnica analítica ICP OES: precisión, exactitud, linealidad, límite de detección y límite de cuantificación.

7.4.1. Calibración ICP-MS

Las curvas de calibración para cada analito se muestran en las **Figuras 7-11 a 7-16**, donde en el eje axial se grafica la intensidad medida en esa masa, en cuentas por segundo, contra la concentración de los estándares. Las figuras son tomadas directamente del programa de cómputo de operación *Nex Ion*.

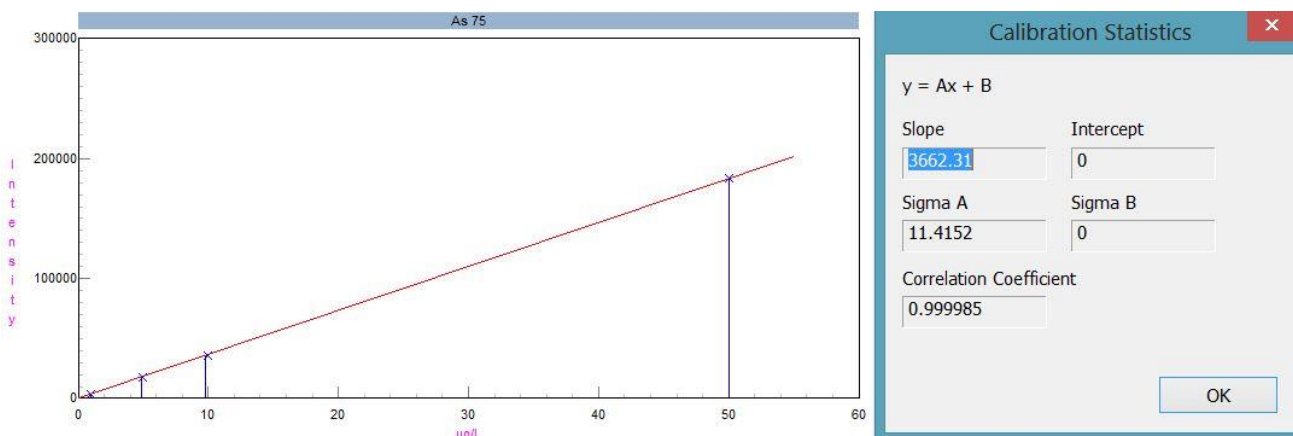


Figura 7-11 Curva de calibración de As, masa 75 en ICP-MS

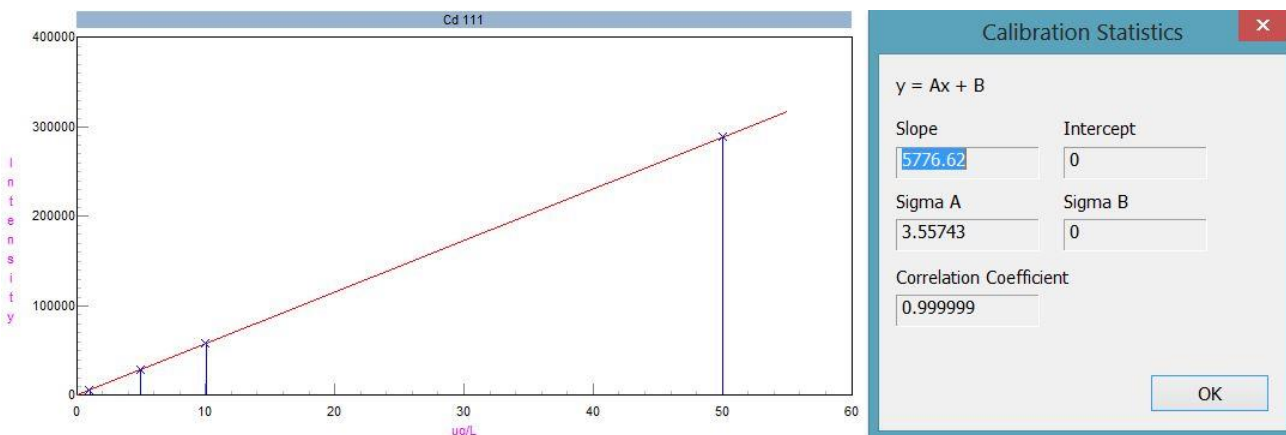


Figura 7-12 Curva de calibración de Cd, masa 111 en ICP-MS

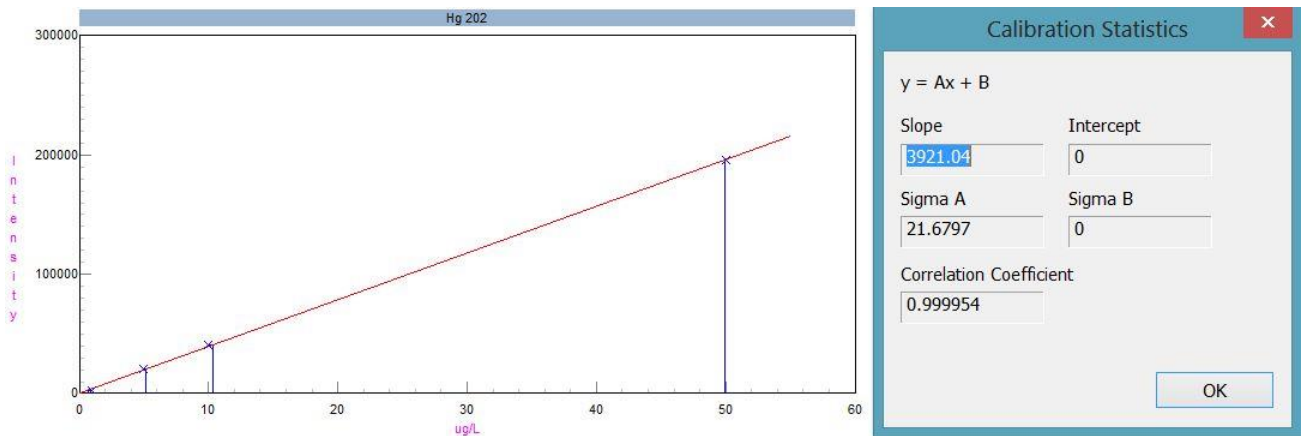


Figura 7-13 Curva de calibración de Hg, masa 202 en ICP-MS

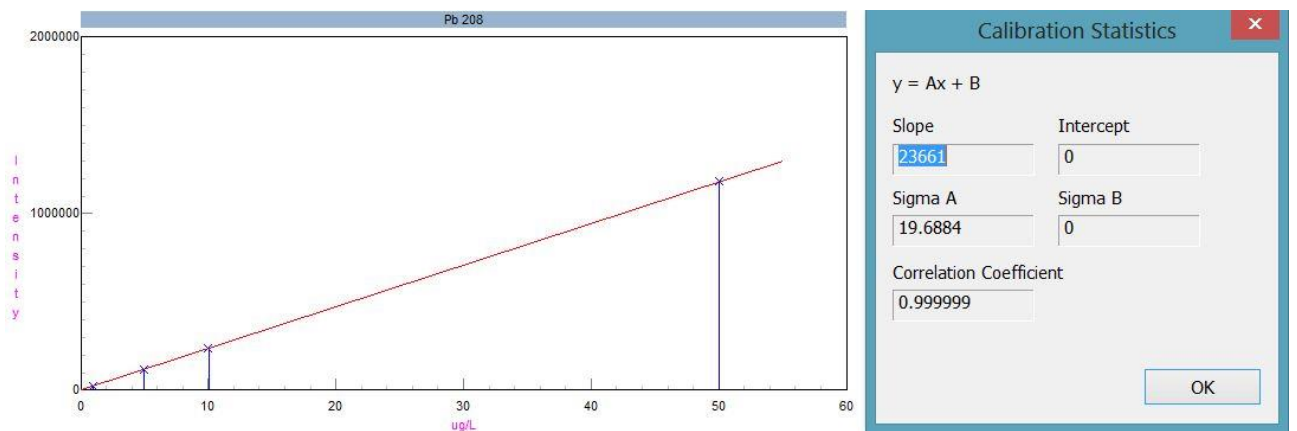


Figura 7-14 Curva de calibración de Pb, masa 208 en ICP-MS

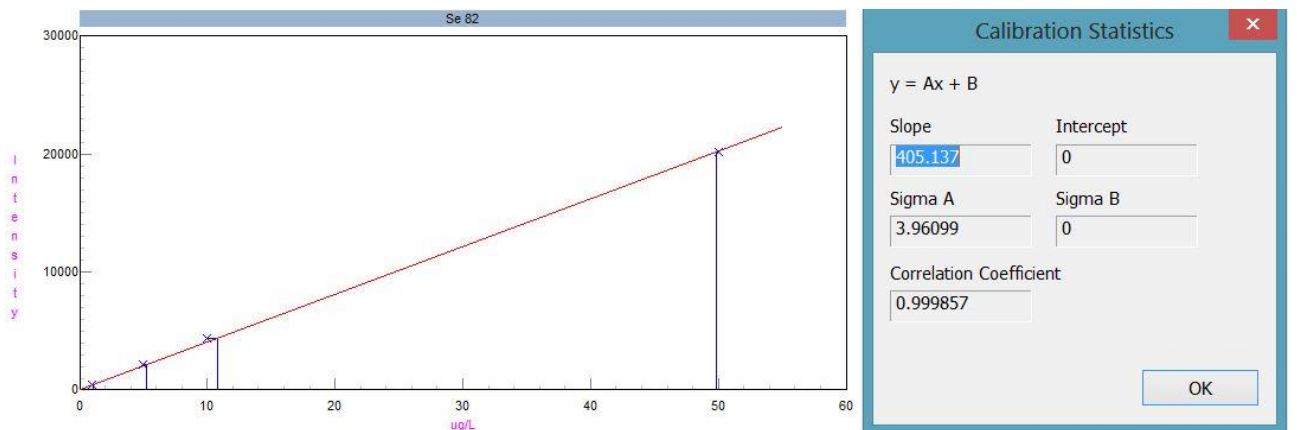


Figura 7-15 Curva de calibración de Se, masa 82 en ICP-MS

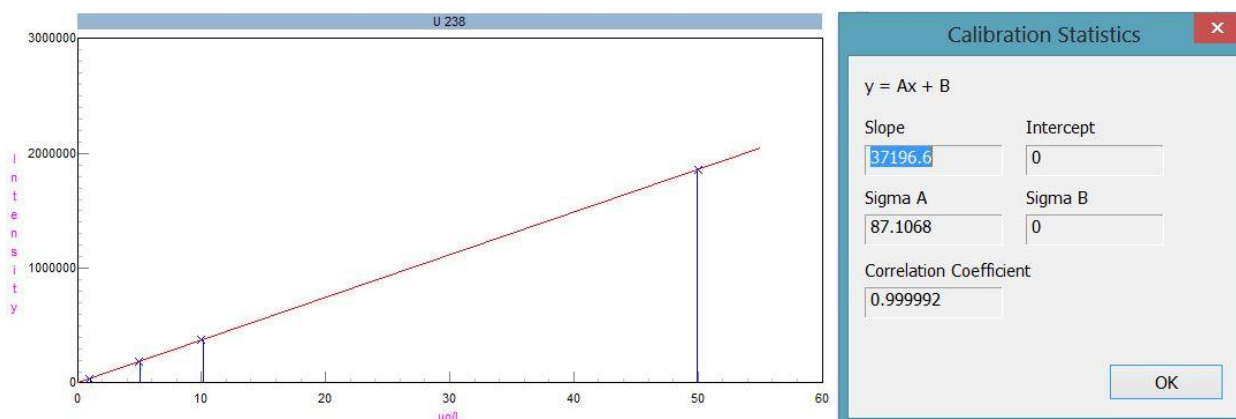


Figura 7-16 Curva de calibración de U, masa 238 en ICP-MS

Cada curva de calibración incluye su respectivo coeficiente de correlación, unidades de calibración, analito con su masa e intensidad medida y concentración de cada estándar.

7.4.2. Concentraciones encontradas en las muestras por la técnica ICP-MS

La **Tabla 7-17** presenta los resultados en concentración de los elementos potencialmente tóxicos analizados mediante la técnica ICP-MS en las soluciones muestra así como en los blancos de digestión. Cada fila corresponde a cada muestra, en las columnas se intercalan las concentraciones con el %RSD generado con la intensidad medida para cada elemento.

	As 75 (ug/L)	%RSD As 75	Se 82 (ug/L)	%RSD Se 82	Cd 111 (ug/L)	%RSD Cd 111	Hg 202 (ug/L)	%RSD Hg 202	Pb 208 (ug/L)	%RSD Pb 208	U 238 (ug/L)	%RSD U 238
BCO AGUA REGIA	103.0	1.10	-0.5	6.00	0.1	5.30	0.6	6.50	4.5	0.90	0.0	3.00
HA1S1	176.7	1.30	-1.3	2.20	0.2	2.00	0.2	0.80	2.7	1.50	1.0	0.90
HA1S2	235.7	0.90	-1.9	1.10	0.3	2.50	0.2	1.30	6.2	0.70	0.9	1.20
HA1B1	164.7	0.70	-1.5	4.80	0.2	2.30	0.7	9.10	2.0	0.60	1.0	0.40
HA1B2	170.4	1.80	-1.5	7.80	0.2	4.00	0.3	3.30	4.7	1.00	1.0	1.20
HA1P1	182.5	0.40	-1.6	10.80	0.2	0.50	0.3	1.90	4.4	0.80	1.0	0.30
HA1P2	168.3	1.10	-1.3	2.60	0.1	1.20	0.2	1.50	10.8	1.60	1.0	1.70
BCO Ti	2.8	0.60	0.1	38.80	0.2	2.70	0.5	6.70	7.0	1.60	0.0	5.70
Ti6Al4V	9.9	1.20	-55.4	0.90	5.9	1.30	1.9	1.40	23.0	0.10	0.1	1.60
Ti 1	4.2	10.20	-64.4	7.90	0.4	1.60	1.6	3.40	146.2	0.90	0.6	0.20
Ti 2	9.0	0.80	-32.4	2.90	0.4	2.10	0.3	4.50	55.2	0.40	0.3	0.90
BCO INOX	239.8	0.50	-0.3	3.00	0.2	4.10	3.6	9.50	17.3	1.10	0.0	3.30
I 1	199.6	0.40	13.6	2.00	1.3	1.50	1.9	1.10	183.0	0.40	0.0	0.80
I 2	277.5	0.10	13.8	0.20	7.9	1.00	1.6	1.30	19.6	0.70	0.0	18.50
I 3	177.4	0.90	11.0	0.30	1.1	0.50	1.3	0.40	19.4	0.20	0.1	2.10
I 4	131.0	0.30	11.0	0.70	14.6	1.40	2.9	1.20	5.3	0.70	0.0	277.80

Tabla 7-17 Resultados de concentración de elementos potencialmente tóxicos en todas las muestras leídas con ICP-MS

7.4.3. . Verificación de la metodología en ICP MS

Precisión: El criterio de aceptación fue: %RSD menor a 10.

Exactitud: Las **Tablas 7-18 a 7-20** contienen los resultados de las concentraciones de las soluciones usadas en la calibración. Para determinar la exactitud del método se calculó el % de recuperación relativo (%R), el criterio de aceptación fue: %R mayor que 90% y menor que 110% (**90 < %R < 110%**). En negritas se observan los elementos aceptados y tenuemente los rechazados

% R Para HA			
Elemento	\bar{x} (n=5)	SD n=5	%R n=5
As	9.16	0.09	91.59
Se	9.95	0.163	99.5
Cd	9.29	0.134	92.93
Hg	9.87	0.061	98.67
Pb	9.34	0.135	93.35
U	9.55	0.049	95.54

Tabla 7-18 Estimación de la exactitud de la metodología en ICP-MS en muestras de HA

%R para Aleaciones base Ti			
Elemento	\bar{x} (n=5)	SD n=5	%R n=5
As	11.88	0.035	128.94
Se	12.28	0.4134	109.41
Cd	10.98	0.183	100.2
Hg	9.2	0.253	110.46
Pb	11.23	0.176	108.5
U	11.29	0.161	107.97

Tabla 7-19 Estimación de la exactitud de la metodología en ICP-MS en muestras base Ti

%R para Aceros Inoxidables			
Elemento	\bar{x} (n=5)	SD n=5	%R n=5
As	11.88	0.1499	118.79
Se	12.28	0.186	122.83
Cd	10.98	0.046	109.75
Hg	9.2	0.382	91.99
Pb	11.23	0.074	112.29
U	11.29	0.023	112.87

Tabla 7-20 Estimación de la exactitud de la metodología en ICP-MS en muestras base de acero inoxidable

Linealidad: La **Tabla 7-21** contiene el respectivo coeficiente de correlación lineal de la curva de calibración, elemento analizado, la masa considerada. El criterio de aceptación fue: coeficiente de correlación mayor o igual a 0.995.

Elemento	Masa	Coeficiente de correlación lineal
As	75	0.999985
Cd	111	0.999999
Hg	202	0.999954
Pb	208	0.999999
Se	82	0.999857
U	238	0.999992

Tabla 7-21 Resumen: Coeficiente de correlación para las curvas de calibración en ICP MS

LOD y LOQ: Se reporta el límite de detección y el límite de cuantificación para la técnica ICP-MS a partir de la lectura del blanco de calibración como muestra (**Tabla 7-22**).

Elemento	Masa	ug/L	SD (ug/L)	LOD	LOQ
As	75	0.067	0.017	0.057	0.174
Se	82	0.093	0.044	0.144	0.437
Cd	111	0.019	0.002	0.008	0.023
Hg	202	0.731	0.005	0.015	0.046
Pb	208	-0.003	0.007	0.023	0.070
U	238	0.020	0.005	0.015	0.045

Tabla 7-22 Límite de detección LOD y límite de cuantificación LOQ en la técnica ICP-MS.

8. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Respecto a las técnicas, se observa que existe una diferencia de costo, por el consumo de argón. El tiempo de lectura en un ICP-OES es constante, es decir, tarda el mismo tiempo en cuantificar un elemento que 76. Mientras que para la técnica ICP-MS el tiempo es proporcional a la cantidad de analitos a cuantificar.

Respecto a la optimización técnica ICP-MS, en la **Figura 6-2** se observa que para la optimización “*Daily performance check*” se espera que las intensidades de ^9Be , $^{23.98}\text{Mg}$, $^{114.90}\text{In}$ y $^{238.05}\text{U}$, sean mayores a 2mil, 15mil, 40mil y 30mil cps respectivamente y para las relaciones de CeO/Ce y Ce^{2+}/Ce sean menores a 0.025 y 0.03 respectivamente. En los resultados mostrados en la **Tabla 7-2** aparecen las intensidades de los elementos ^9Be , $^{23.98}\text{Mg}$, $^{114.90}\text{In}$ y $^{238.05}\text{U}$ obtenidas durante la prueba las que son mayores en todos los casos mayores y los cocientes de intensidad CeO/Ce y Ce^{2+}/Ce inferiores a los requeridos. Lo que indica que el equipo cumple con los criterios establecidos y por lo tanto se encuentra optimizado. Esto significa que se pueden cuantificar con confiabilidad tanto elementos pesados como $^{114.90}\text{In}$, ^{208}Pb y ^{238}U , así como ligeros, por ejemplo: ^9Be .

8.1. CONCENTRACIONES OBTENIDAS POR ICP-OES

En las **Figuras 7-6 a 7-10** se observa que, para algunos elementos, la concentración leída corresponde a lo que el ácido de digestión aportó. Éstas muestran los espectros generados en la lectura de cada blanco de reactivos de digestión comparado con el estándar de calibración de 1ppm para permitir hacer una estimación de la concentración del analito contenida en el blanco. Se observa que cada blanco de reactivos contiene su propia composición, debido a que cada tipo de biomaterial fue digerido de manera diferente, además de que la fuente de contaminación también puede atribuirse al material en que se preparó.

En la **Figura 7-9** aparece el espectro en la longitud de onda leída para cuantificar sodio en el que el blanco de calibración presenta un pico de altura similar al pico generado por el estándar de 10 ppm. Esto significa que hay contaminación de sodio cuya concentración se estima igual o mayor a la del estándar. Ésta fue la razón para que no haya sido posible cuantificar sodio en este estudio. El Tl y el Selenio no estaban presentes en el blanco, pero el ruido fue tan alto que no se pudo generar una curva de calibración que permitiera la cuantificación. Se observa en la **Tabla 7-16** que presenta el LOD y LOQ de la técnica ICP-OES que estos elementos, Tl y Se, tienen de los LOD más elevados 7.7 y 3.11.94 mg/L respectivamente, esto debido a que el ruido fue muy alto, por tal motivo el LOQ también se incrementó. Para poder leer estos elementos con confiabilidad en ICP-OES, es necesario optimizar el equipo específicamente para cada uno y no con Mn, en caso de ser requeridos.

Los espectros de Li, Pb, Cd, Cu, P, Be y V representados en la **Figura 7-8**, reflejaron que ni los blancos de digestión ni el de calibración contenían niveles detectables de estos analitos.

8.1.1. Hidroxiapatitas (HA)

En las muestras de HA analizadas se encontraron los siguientes elementos Mg, Ca, P, Si, Fe, Sr, B y Ba principalmente, sin embargo, el análisis realizado para los espectros indica que el Fe, B, Ba, Mg y sodio están presentes en los blancos de digestión. El blanco de reactivos para HA contiene concentraciones superiores a 1ppm de Fe, B y considerablemente altas de Si, el Mg se encuentra presente también en este blanco en niveles de ppb (por la altura del pico). Por tales motivos, se restó lo que aportaron los bancos de reactivos.

El Sr fue un elemento común en todas las muestras de HA en concentraciones del orden de 0.1 mg/L en solución, el espectro de Sr para los blancos mostró que éstos se encuentran libres de contaminación. Sin embargo, se descartó debido que no cumplió con el porcentaje mínimo de recuperación el que se usó para evaluar la exactitud (**Tabla 7-14**). A pesar de que las concentraciones de éste en las muestras fueron superiores al límite de detección y de que la curva de calibración presentó un coeficiente de correlación superior a 0.995. Los analitos presentes en HA son P y Ca, sacando los promedios de concentración de cada analito de las muestras de HA se tiene la siguiente composición promedio para HA:

Composición general de HA (por ciento peso/peso)	
Ca: 33.2	P: 15

Tabla 8-1 Concentración promedio de elementos mayoritarios en HA

Es importante aclarar que el discriminar elementos no significa que se esté afirmando que no estén presentes en la muestra. Significa que no es posible reportar una concentración de ellos debido a que no es un valor confiable. Para que una lectura se considere confiable tiene que estar avalado por cada punto de la verificación.

Las composiciones obtenidas para las Hidróxiapatitas son razonables considerando que la relación Ca/P debe ser superior a 1.6667 para poder ser biocompatible (7). La obtenida fue de 2.21, lo que indica que es apta para usarse como biomaterial.

8.1.2. Aceros inoxidables grado quirúrgico

Las concentraciones de Ca, B, Ba, Li, K, Ag y Ti permanecieron constantes en todas las muestras en niveles inferiores o iguales a 1 ppm, también se observa en los espectros mostrados en las **Figuras 7-6 a 7.10**, que estos analitos fueron adicionados con los reactivos de digestión. Las concentraciones de estos elementos fueron eliminadas al restar las concentraciones leídas del blanco de reactivos a las de las muestras.

La probabilidad de que más de un acero estudiado contenga Si es alta, sin embargo, debido a los altos contenidos de éste en los reactivos de digestión y que no cumple con el criterio de exactitud, no es posible cuantificarlo con confiabilidad. Discriminando estos

elementos (Ca, B, Ba, Li, K, Ag, Ti y Si) entonces la concentración de los aceros inoxidables queda de la siguiente manera:

Composición de cada pieza de acero inoxidable grado quirúrgico analizada en porcentaje en peso						
ID	Cr %	Cu %	Mn %	Mo %	Ni %	
I1	17.13	0.5	1.12	--	8.3	Resto Fe
I2	15	0.3	--	2	8.97	Resto Fe
I3	17.5	--	1.2	--	8.5	Resto Fe
I4	14.30	--	1.54	1.87	8.5	Resto Fe

Tabla 8-2 Concentraciones en porcentaje en peso de elementos mayoritarios encontrados en las muestras de acero inoxidable grado quirúrgico

Comparando las concentraciones obtenidas para los aceros inoxidables estudiados con las concentraciones teóricas reportadas en la **Tabla 5-1** se observa que los aceros I2 e I4 no cumplen con el contenido mínimo de Cr que es 16.5 % y todos se encuentran bajos en Ni para ser del tipo 316L, y aunque los cuatro tienen el contenido requerido de Ni para ser clasificado como 304, en ningún otro elemento coinciden.

8.1.3. Aleaciones base titanio

Al descartar las concentraciones de elementos que se encontraron en los blancos de digestión se encontró la siguiente composición para la muestra Ti6Al4V:

Composición encontrada en aleación Ti6Al4V		
V: 3.53%	Al:6.35% (No cumplió el criterio de exactitud)	Resto: Ti

Tabla 8-3 Concentración de elementos mayoritarios en la aleación Ti6Al4V

Mientras que para las muestras Ti1 y Ti2 se observa que ningún elemento de los reportados son resultados confiables por estar presentes en los blancos de digestión. Por otro lado no se encontró otro elemento como en el caso de la muestra Ti6Al4V que indique que se trate de una aleación, lo que lleva a suponer que se trata de Ti como materia prima.

Un dato importante que arrojaron los espectros es que la contaminación no viene del agua ya que en todos los casos, excepto para sodio, el blanco de calibración, que es agua usada también en la digestión y aforo, no presenta picos de intensidad. Aun cuando el pico para esta disolución en sodio sea muy alto, no se puede afirmar tajantemente que el agua desionizada contenga sodio, ya que la **Figura 7-9** del espectro de sodio, muestra que sólo ésta contiene una concentración cercana a 10 ppm. Los blancos de digestión, aunque sí contienen sodio, no se observan al mismo nivel. Se espera que si éstos se elaboraron con la misma agua desionizada, deben contener, entonces, sodio a tales niveles. Es posible que el sodio encontrado en el blanco de calibración haya sido aportado por el recipiente que lo contuvo debido a una limpieza ineficiente del mismo.

8.2. Concentraciones encontradas por ICP-MS

La **Tabla 7-17** contiene las concentraciones en las disoluciones muestra de los elementos potencialmente tóxicos con su respectivo %RSD. Los %RSD son menores a 10 en todos los casos donde se analizó una muestra y la concentración fue positiva, sin embargo es necesaria la evaluación de más parámetros de verificación. Cuando se analizó agua o blancos de digestión, los %RSD se dispararon, lo que es normal por tratarse de un blanco, es decir, que no contiene el analito.

Se observa que tanto las HA como los aceros inoxidable tienen contenidos de As en alrededor de 200 ppb, sin embargo, los blancos de digestión contienen As en 103 y 240 ppb respectivamente. La digestión para ambos fue con agua regia que contiene altos contenidos de cloruros. Éstos pueden combinarse con argón y generar una interferencia **poli atómica** para el As. La masa de As es 75 y la suma de $^{40}\text{Ar} + ^{35}\text{Cl}$ también es 75 y en caso de formarse, llegaría al detector al mismo instante que el As. Se requiere al menos 1% de cloruros para que se genere esta interferencia y para la digestión se usaron 10 mL de agua regia, que contienen 7.5 mL de HCl concentrado, lo que indica que la probabilidad de generar la interferencia sea elevada.

8.2.1. Acero inoxidable

El selenio se encontró presente a niveles de 10 ug/L (ppb) en las soluciones de aceros inoxidable, sin embargo, en la estimación de la exactitud, el Selenio presenta un %R de 122%, que queda fuera del rango de aceptación (**Tabla 7-20**) La siguiente tabla contiene las concentraciones de los sólidos obtenidas por el cálculo mostrado en la **ecuación 7-1**.

Identificación	Cd mg/Kg
I1	2.27
I2	13.96
I3	1.83
I4	4.50

Tabla 8-4 Concentraciones de elementos potencialmente tóxicos encontrados en muestras de acero inoxidable 316LMV

El blanco de digestión de acero inoxidable presentó Pb en niveles de 17 ug/L. El acero inoxidable I1 mostró presencia de Pb por arriba de 160 ug/L aproximadamente con respecto al blanco de digestión, lo que indica que sí hay presencia de Pb en este biomaterial, sin embargo, no fue posible cuantificarlo confiablemente debido a que no cumple con el criterio de exactitud.

8.2.2. Hidroxiapatita

Debido a que los niveles que presenta el blanco de digestión de hidroxiapatita son parecidos a los contenidos en las muestras de hidroxiapatita para Pb, Se, Hg y Cd, entonces es posible descartar la presencia de estos elementos. El caso de U es distinto, las lecturas de este elemento cumplen todos los puntos de verificación evaluados en el presente trabajo. El blanco de digestión contiene 0.014 ug/L de Uranio, mientras que todas las muestras contienen alrededor de 1 ug/L. Esta concentración es de uranio que presentó la solución y de acuerdo con el cálculo de la **Ecuación 7-1**, el contenido de uranio en HA sólida es de 1000 ug/Kg, es decir 1 mg/Kg.

8.2.3. Aleaciones base titanio

En el análisis para los elementos mayoritarios se encontró que las muestras Ti1 y Ti2 no son aleaciones base Titanio sino que se trata de Titanio puro como materia prima. En la **Tabla 8-5** mostrada a continuación, se observa el resultado de aplicar la **ecuación 7-1** para el cálculo de las concentraciones en los sólidos a partir de las lecturas de las soluciones.

Identificación	Cd (mg/Kg)	Hg (mg/Kg)	Pb (mg/Kg)	U (mg/Kg)
Ti6Al4V	6.18	2.03	24.15	--
Ti 1	--	1.51	138.46	0.59
Ti 2	--	0.35	59.98	0.36

Tabla 8-5 Concentraciones de elementos potencialmente tóxicos encontrados en aleaciones base Ti

En las tres muestras de Ti estudiadas se observa un contenido considerable de Pb. La muestra Ti1 contiene 138.46 ppm (peso-peso), lo que corresponde a 0.138% en peso, además del contenido de mercurio y uranio.

8.3. Verificación

En todas las curvas de calibración mostradas el coeficiente de correlación es igual o mayor a 0.999 lo que confirma que la relación intensidad/concentración es directamente proporcional, además de que califica como correcta la elaboración de las disoluciones estándar. Esta linealidad también es posible debido a que el agua, como lo mostraron la mayoría de los espectros, no contiene concentraciones de elementos cuantificados confiablemente. El que esa misma solución cambie de concentración con respecto al tiempo para uno o varios elementos, revela que existen variaciones en el espectrómetro para cuantificarlos.

Para que existe repetibilidad en una lectura se requiere que el flujo de muestra sea constante. Variaciones en éste provocan que las integraciones que realice el detector no

sean constantes y por lo tanto se aumenta la SD y el RSD. La nebulización es crucial para la repetibilidad. De ella depende en gran parte el flujo de la muestra.

En el caso de las curvas de calibración para ICP-MS, la intensidad en cuentas por segundo para los elementos analizados a una misma concentración son muy parecidas (**Figuras 7-11 – 7-16**), ya que en esta técnica se cuantifican directamente los iones que se lograron producir y separar para la cuantificación, por lo tanto, al encontrarse en la misma concentración es muy probable que las cantidades de cuentas por segundo sean parecidas entre elementos.

A diferencia del ICP-MS, en la técnica ICP-OES se observa que a concentración constante, la intensidad varía según el elemento. Por ejemplo: En el estándar de 10 ppm el Pb presentó una intensidad de alrededor de 1000 cps mientras que el Cr emitió 12 veces más en la misma concentración (**Figuras 7-3 y 7-2** respectivamente). La sensibilidad difiere significativamente entre los elementos, debido a que cada uno requiere cierta cantidad de energía para ionizarse, excitarse y poder emitir. Los elementos que tienen menor emisión tienen un LOD alto con respecto a los que presentan mayores intensidades.

Las tablas de LOD y LOQ muestran que las técnicas son capaces de cuantificar en los niveles requeridos; sin embargo, los resultados en general revelan que no es posible debido a la calidad de limpieza del instrumental, como de los reactivos de digestión.

En la técnica ICP-OES se descartaron resultados por no cumplir con los criterios de verificación y/o por estar presentes significativamente en los blancos de digestión. Hubo elementos que cumplieron todos los puntos de la verificación, lo que indica que el espectrómetro ICP-OES funciona adecuadamente para cuantificar dichos elementos; sin embargo, que fueron descartados por estar presentes en los blancos de digestión (Be y Ca por ejemplo). Se tendría que modificar la metodología de digestión (mejorar las buenas prácticas de laboratorio, usar reactivos de mejor calidad, entre otros) para poder cuantificarlos con confiabilidad en caso de ser requeridos

9. CONCLUSIONES

- Se logró la digestión de muestras de Hidroxiapatita, aleaciones base Ti y acero inoxidable grado quirúrgico para su análisis en ICP-OES e ICP-MS
- Se logró optimizar el espectrómetro masas así como el espectrómetro óptico con plasma acoplado inductivamente logrando que cada técnica aumente la resolución en los niveles requeridos, logrando límites de detección bajos.
- Las lecturas realizadas permitieron verificar ambas técnicas evaluando la linealidad con las curvas de calibración, límite de detección y de cuantificación con los blancos de calibración, precisión con las lecturas de las muestras y exactitud con la repetición de lecturas de soluciones estándar
 - Se requiere usar ácidos de digestión de mayor pureza para poder cuantificar confiablemente.
 - Es necesario disminuir el uso de ácido clorhídrico en la digestión para evitar la interferencia poliatómica generada por la presencia de cloro en el espectrómetro de masas con plasma acoplado inductivamente y poder cuantificar con confiabilidad, en caso de estar presente, As en los biomateriales desde niveles de traza.
 - Los límites de detección y cuantificación revelan que es posible cuantificar en niveles traza y ultra traza con confiabilidad.
 - Los coeficientes de correlación permiten verificar ambas técnicas de cuantificación a los niveles requeridos: mayoritarios, como minoritarios, con confiabilidad.

10. REFERENCIAS MESOGRÁFICAS Y BIBLIOGRÁFICAS

1. **Viladot V, Antonio, y cols.** *Lecciones básicas de biomecánica del aparato locomotor.* Barcelona : Springer, 2001.
2. *Electrochemical study of Type 304 and 316L stainless steels in simulated body fluids.* **Yee-Chin Tang, y cols.** Japón : Elsevier, 2006.
3. <http://www.fortinox.com/pdf/inoxidables/austeniticos/316.pdf>. Consultada en junio 2014.
4. *Biomateriales aquí y ahora.* **Vallet Regí, Munera.** 2000.
5. *Aplicaciones biomédicas del Titanio y sus aleaciones.* **Planell F. J., Gill y cols.** Barcelona : Biomédica-originales 08028, 2003.
6. **ISO5832.** *Implants for surgery - Metallic Material. Part 3: Wrought Titanium - 6 Aluminium-4 Vanadium.* 1990.
7. *Características cristaloquímicas de la hidroxiapatita sintética tratada a diferentes temperaturas.* **Londoño, Martha Elene, y cols.** Junio 2006. págs. 109-118.
8. *Hidroxiapatita sintética de porosidad inducida: comparación con hueso calcinado.* **Echavarría V., Alejandro, y cols.** Universidad de Antioquia, Medellín : Revista de la facultad de Ingeniería, 1999.
9. **Akbar Montaser, y cols.** *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry.* USA : WILEY-VCH, 1998.
10. **Grenville Holland, Scott D y cols.** *Plasma Source Mass Spectrometry: Applications and Emerging Technologies.* USA : RS.C, 2002.
11. **Gispert, Jaume Casabó i.** *Estructura atómica y enlace químico.* Barcelona : Reverté, 2007.
12. **Charles B., y cols.** *Concepts, Instrumentation, and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry.* USA : PERKIN ELMER, 1997.
13. **S. Greenfield, y cols.** *Common RF Generators, Torches and Sample Introduction Systems in ICP in analytical Atomic Spectroscopy, 2 ed.* 1992.
14. **Ömemark, B. Magnusson and U.** *Eurachem Guide, The Fitness for Purpose of Analytical Methods, A laboratory Guide to Method Validation and Related Topics.* 2014.
15. **Santiago Gomez Ruíz, María.** *Análisis Instrumental, Vol 1.* España : Lorena Bello, 2010.
16. <http://goldbook.iupac.org/L03540.html>. Consultada en Noviembre 2014.
17. http://www.perkinelmer.com/CMSResources/Images/44-155442GDE_011080AtomicSpectroscopyStandarsGuide.pdf. Consultada en abril 2015.

18. **Bennington, James L.** Diccionario enciclopédico de laboratorio clínico. Argentina : PANAMERICANA, 1991, pág. 737 Y 738.
19. **17025:2005, ISO/IEC.** *General requeriments for the competence of testing and calibration laboratories, ISO Geneva .*
20. *Crystal structure of calcium-deficient carbonated hydroxyapatite thermal decomposition.* **Ivanova T.I, y cols.** s.l. : Journal of Solid State Chemistry, 2001.
21. <http://www.fao.org/docrep/010/ah833s/ah833s15.htm>. Consultada en agosto 2015.
22. **ISO9000:2005.** *Quality management systems - Fundamentals and vocabulary, ISO Geneva.*