

Desarrollo y construcción de un detector UV para la medición de metales pesados en sangre y agua; su impacto social y aplicaciones en el sector salud.

(Propuesta de tema de investigación para tesis doctoral)

Codirectores de tesis:

Dr. Luís Manuel Montaña Zetina. Depto. Física, CINVESTAV

Dr. Carlos Hoyo Vadillo. Depto. de Farmacología, CINVESTAV

Asesores:

Dr. Ernesto Suaste Gómez. Depto. Ing. Eléctrica, sección bioingeniería.

Dr. David Elías Viñas. Depto. Ing. Eléctrica, sección de bioingeniería.

Marco Antonio González Cantellano

Planteamiento del problema.

Existen sistemas electrónicos de alta tecnología para la detección de casi todo lo que el ser humano ha desarrollado. Para la determinación de contaminantes provenientes de diversas fuentes naturales y artificiales se utilizan métodos de detección de laboratorio que tienden a ser sofisticados y, en muchas ocasiones, muy onerosos. A partir del descubrimiento de la espectroscopia, se ha avanzado en infinidad de aplicaciones para las radiaciones en sus diferentes longitudes de onda; medicina, industria, seguridad, etc. Para el caso de la salud, los sistemas de detección de algunos síntomas o enfermedades han requerido de sofisticados sistemas de detección o, en su defecto, de pruebas y ensayos clínicos largos y, muchas veces, costosos¹.

A pesar de que los avances tecnológicos ocurren prácticamente en el día a día², no existen aún equipos de bajo costo que permitan detectar algún contaminante de interés de salud pública de manera casi directa en una muestra de sangre o de agua que no requiera una marcha analítica sofisticada o un equipo instrumental de alto precio. Una alternativa para subsanar este problema es el de desarrollar, a mediano plazo, procedimientos o metodologías que permitan marcar a contaminantes de tipo metales pesados con algún compuesto químico para generar fluorescencia al incidir radiación ultravioleta en su superficie, y que a su vez puedan ser detectados por un instrumento de diseño y producción de bajo costo para este fin.

La sofisticación para la detección de algunas enfermedades o síntomas en personas utilizando métodos indirectos puede ser una alternativa en la utilización de tecnología ya existente (1) (2) (3). Utilizar las propiedades de algunas sustancia químicas que, al ser excitadas por radiación ultravioleta, emiten fotones, puede ser una alternativa de solución para abatir costos y para diversificar sus aplicaciones en tecnologías por desarrollar o aplicando las ya existentes (4).

¹ En laboratorios "El Chopo", de la ciudad de México, se manejan los siguientes costos: plomo \$635, mercurio \$625, arsénico \$899. Tiempo de entrega de resultados: 7 días. Para el caso del plomo, la muestra es a partir de la orina; para las demás determinaciones, las muestras son en sangre y todos utilizan espectrometría de flama por absorción atómica en horno de grafito o vapor frío. (Datos de septiembre del 2013)

² Se ha reportado el desarrollo de un dispositivo de microscopía óptica de células sanguíneas, del tamaño de una caja de zapatos, en el que puede observarse una sola línea dentro de un vaso sanguíneo que se forma con imágenes de múltiples colores de la luz que codifican posiciones laterales y una sola célula que, al cruzar la línea espectral, produce una imagen bidimensional con un eje codificado por longitud de onda y el otro por el tiempo. Para una información más amplia véase (15).

Antecedentes

La espectroscopia es el uso de métodos ópticos que se basan en la interacción de la luz con la materia. El término espectroscopia significa la observación y el estudio del espectro, o registro que se tiene de una especie tal como una molécula, un ion o un átomo, cuando estas especies son excitadas por alguna fuente de energía que sea apropiada para el caso (5). Se relaciona con las unidades de refractometría, fluorescencia, fosforescencia, turbidimetría y nefelometría polarimétrica en que son métodos ópticos que se basan en la interacción de la energía radiante (ondas electromagnéticas) con la materia. Esta interacción es tan específica que permite identificar qué tipo de muestra interactúa y qué cantidad de materia interactuó; es decir, los métodos espectroscópicos permiten realizar análisis cualitativos y cuantitativos de muchísimas muestras tanto orgánicas como inorgánicas y es el fundamento más utilizado para los laboratorios de análisis de prácticamente toda la industria y del área de la salud.

En espectroscopia UV - visible e infrarrojo, los métodos colorimétricos solo se emplean con soluciones coloreadas y en la región visible del espectro electromagnético. Los métodos espectrofotométricos emplean energía radiante de las regiones del ultravioleta, UV, (cercano, lejano) del visible; en la región del infrarrojo, (cercano, medio y lejano) (6). La cantidad de energía absorbida es proporcional a la concentración del material en la solución. La aplicación diversa de estos métodos se basa en la amplitud de intervalos de longitudes de onda donde se puede realizar el análisis. En este sentido, el poder contar con instrumentos más sensibles y precisos, permite el desarrollo de medidas repetidas que podrían convertirse en métodos adecuados para el análisis de trazas. En la fluorescencia y fosforescencia se producen por mecanismos diferentes pero experimentalmente es relativamente sencillo poderlos distinguir observando la vida de la especie excitada. Estas técnicas se aplican en las áreas de Química Analítica, Química Inorgánica, Química Orgánica y Bioquímica, y en la determinación y caracterización de productos farmacéuticos y sustancias naturales.

Historia.

Uno de los pioneros en la espectroscopia fue Isaac Newton, quien a principios de 1600 observó y estudió el comportamiento de la luz solar cuando ésta atraviesa un prisma. En 1831, J.F. Herschel demostró que las sales de diferentes metales producen distintas coloraciones a la flama cuando, ya sea disueltas o en forma directa, son puestas en contacto con ésta. Así por ejemplo la sales de calcio dan a la flama un color naranja, las de sodio un color amarillo, las de potasio un color violeta, las de cobre un verde azulado, las

de estroncio un color verde amarillo, etc. Estas observaciones fueron corroboradas posteriormente por otros investigadores sugiriendo que de esta forma podría identificarse el metal formador de la sal en un compuesto químico específico (7).

Kirchoff y Bunsen en 1859 ampliaron el conocimiento de la naturaleza de este fenómeno, cuando la luz colorida producida por el metal en la flama la hicieron incidir en un depósito óptico que separa la radiación emitida por el metal de la luz solar. En éste instrumento, que fue llamado espectroscopio (espectroscopio= observación del espectro), se observó que cada metal, que emite radiación de diferente color, presenta líneas que aparecen en diferentes posiciones en un campo de observación, y que esto es independiente de las condiciones en que se realiza el experimento, así como de la naturaleza de la sal metálica y únicamente depende del metal. Adicionalmente, la intensidad de la línea está directamente relacionada a la concentración del elemento en solución.

A principios del siglo XX no se conocían todos los elementos de la tabla periódica. Frecuentemente se incurría en errores al dar por descubiertos elementos nuevos cuando en realidad eran elementos ya conocidos (8). Gracias al desarrollo de la espectroscopia, cuando se daba la noticia de haber encontrado algún elemento nuevo, se observaba su espectro. Si este coincidía con los elementos ya conocidos, se descartaba la novedad del elemento, si por el contrario no coincidía con ninguno de los espectros de elementos ya conocidos, la prueba se tomaba como inobjetable y se consideraba uno más de la lista de elementos químicos. Aunque las aplicaciones de la espectroscopia en el análisis cualitativo fueron casi inmediatas, su utilidad en el aspecto cuantitativo tuvo que esperar muchos años, ya que el desarrollo científico y tecnológico de ese momento era insuficiente.

A pesar de que el potencial de la espectroscopia en el análisis cuantitativo era conocido desde fines del siglo XIX, su desarrollo y amplia aplicación en el análisis químico comenzó en 1952 cuando se desarrolló el primer equipo comercial de espectroscopia de absorción atómica para la cuantificación de metales. Esta lentitud en la adaptación de técnicas espectroscópicas al análisis químico cuantitativo ha sido compensada por el alto grado de desarrollo que ha alcanzado en los últimos años.

A diferencia de la espectroscopia atómica, la espectroscopia molecular tuvo un desarrollo más temprano ya que se requería de un instrumental menos sofisticado. Bouger, Lambert y Beer encontraron las relaciones cuantitativas entre espesor de celda y concentración de la especie absorbente para una solución que absorbe radiación en el espectro visible (9). Inicialmente las técnicas estuvieron limitadas a la región visible del espectro electromagnético, por lo que a esta técnica espectroscópica se le llamó colorimetría, ya

que la intensidad de color está directamente relacionada a la concentración de la especie absorbente. Posteriormente se desarrollaron la espectroscopia ultravioleta, infrarrojo, Raman, de rayos X y fluorescencia. Estas técnicas pueden ser sencillos análisis colorimétricos o por el contrario, los más sofisticados equipos de cómputo están acoplados a estos equipos instrumentales para tener análisis más precisos y con mayores límites de detección. Las aplicaciones de la espectroscopia son innumerables: en química clínica, en control de calidad en los procesos industriales, en análisis de aguas residuales y potables, en análisis de tierras, en análisis de fertilizantes, en medicina forense, en metalurgia, en farmacia, en control de procesos industriales y en muchas otras áreas científicas y tecnológicas.

Justificación

La fluorescencia resultante brinda una forma extremadamente poderosa para generar contraste en imágenes microscópicas, o como forma de detección cuando el fluoróforo está anclado a la especie química o biológica que se desea conocer. Se pueden obtener imágenes simultáneas de diferentes estructuras moleculares usando estos compuesto químicos de manera múltiple mientras sus emisiones o tiempos de vida fluorescente se puedan distinguir claramente. Estos compuestos habilitan el rastreo de moléculas sencillas, ya que la energía de transferencia entre fluoróforos se puede explotar en la identificación de moléculas interactuando cercanamente; por ejemplo, el blanqueamiento es una técnica explotada en técnicas para monitorear el tráfico molecular en células vivas (10). Los fluoróforos también son importantes en identificación de minerales, contaminantes e impurezas en la ciencia de materiales, geología, inspección de semiconductores, y aplicaciones de ciencias ambientales (11).

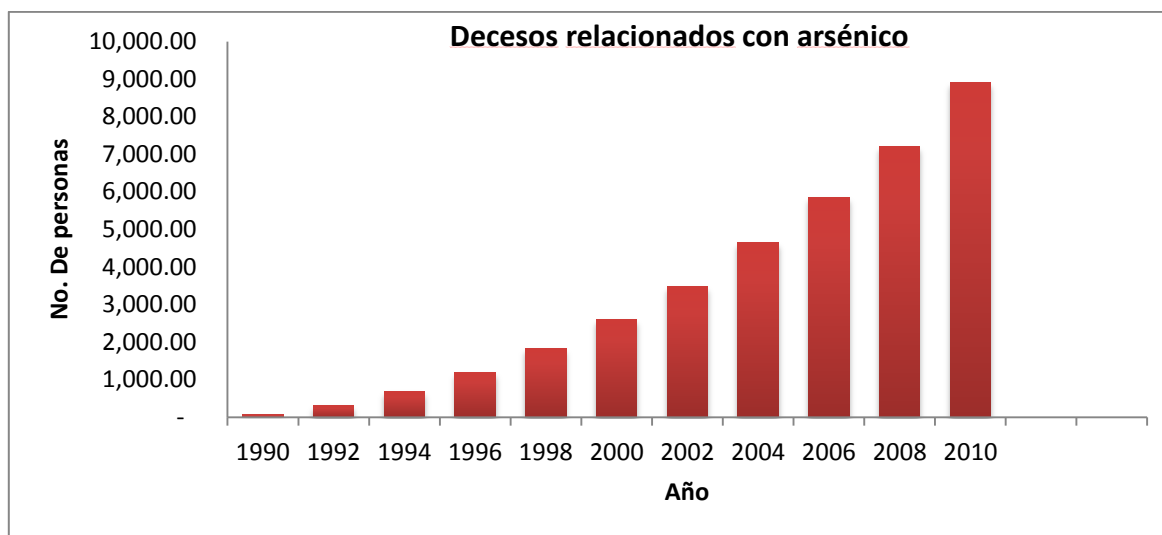
Para el caso de la detección de contaminantes ambientales en sangre y agua, existen procedimientos de análisis cualitativos y cuantitativos estandarizados que permiten determinar muchos parámetros; entre ellos, los metales pesados. Ya sea como determinantes en la salud ocupacional o como un problema de salud pública, la detección y cuantificación de metales pesados por métodos de instrumentación analítica que requiere el desarrollo de los métodos, los hace de no fácil acceso y de costos relativamente altos (12). En este sentido, no existen en el mercado aparatos de bajo costo del tipo de análisis instrumental rápido para detectar algún contaminante relacionado a metales pesados en sangre o en agua con bajos límites de detección que se ajusten a normas oficiales. La urgencia de contar con algún instrumento de bajo costo que sirva para la detección y cuantificación de este tipo de contaminantes en sangre o agua para

consumo humano, se hace prioritaria sobre todo en comunidades que están en contacto directo con estos; como aquellas ciudades cercanas a yacimientos minerales.

Problemas de salud pública.

Aunque no aparecen como un problema de salud inmediato a nivel nacional, los padecimientos y la mortandad relacionada con compuestos derivados de arsénico, mercurio, cadmio y plomo presentan una incidencia alta en el norte del país. Datos estimados al 2010 por parte de la Secretaria de Salud, indican que la mortandad relacionada con metales tóxicos para la salud huma es de 5.4 muertes por cada 100 habitantes en zonas con actividad económica marcada, mayoritariamente, por yacimientos minerales; aunque no son específicos sobre que contaminantes son los incidentes.

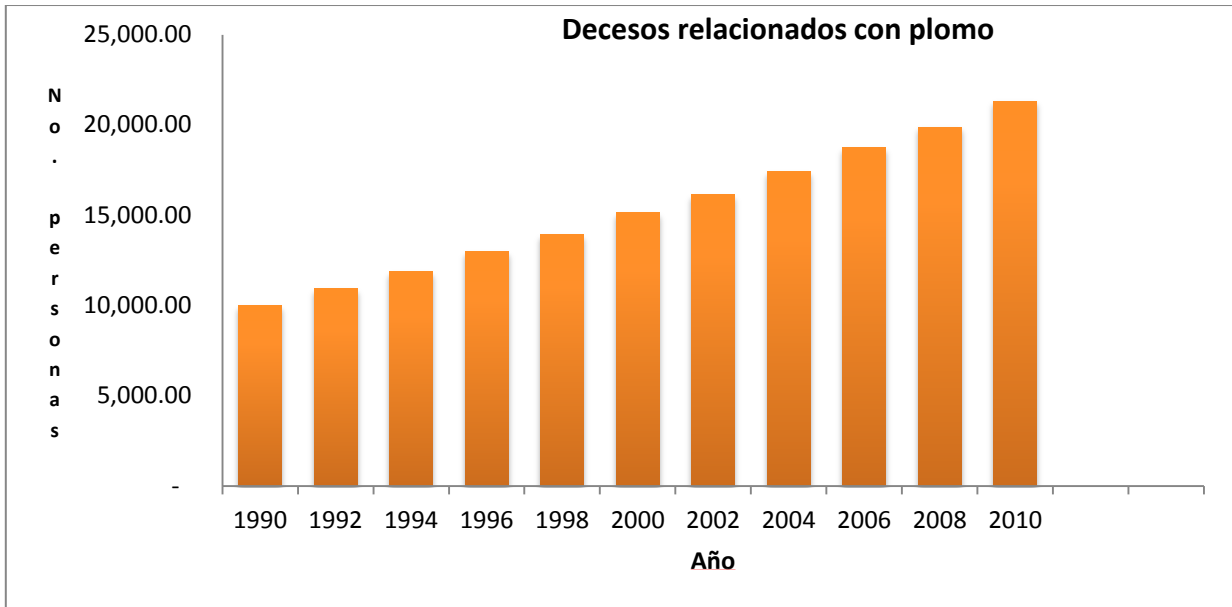
Los costos generados por los tratamientos hacia pacientes con síntomas relacionados con metales pesados indican un costo de \$5,874.67 persona/mensual sin indicar si el paciente termina o no su tratamiento y si el mismo se recupera del todo o fallece por las mismas causas (13) (14). Un indicador en común es la falta de detección y diagnóstico oportuno en las poblaciones del norte del país, en parte debido al costo de los análisis de laboratorio y a la imposibilidad de realizarlos “in situ” con la población afectada.



Proyecciones del 2000 al 2010 sobre decesos por arsénico en todo el país

(Datos no normalizados debido a la ausencia de parámetros estadísticos)

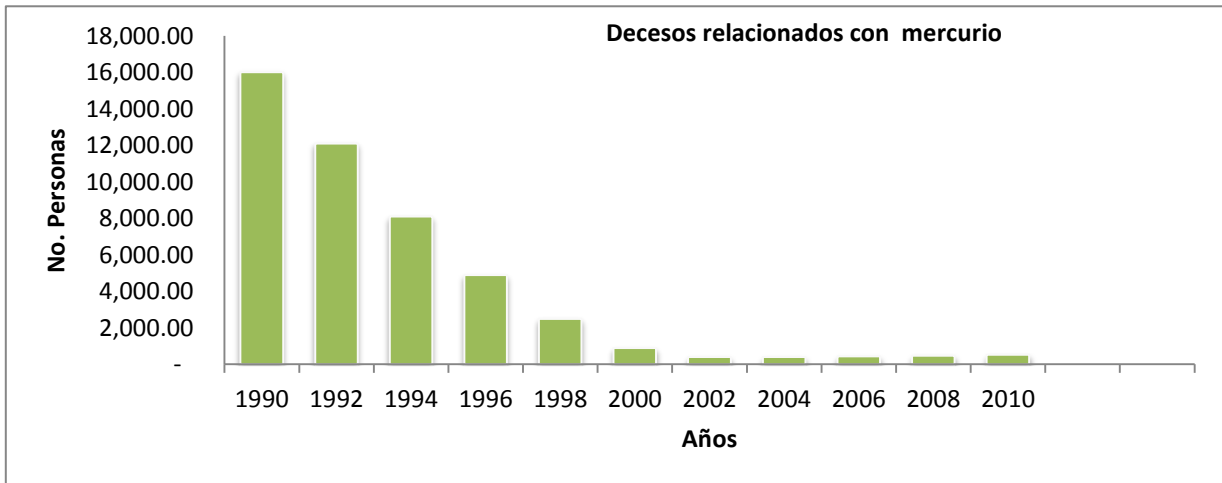
Fuente: elaboración propia con datos del INEGI, Instituto nacional de salud pública, IMSS e ISSSTE



Proyecciones del 2000 al 2010 sobre decesos relacionados con plomo en todo el país

(Datos no normalizados debido a la ausencia de parámetros estadísticos)

Fuente: elaboración propia con datos del INEGI, Instituto nacional de salud pública, IMSS e SSSTE



Proyecciones del 2000 al 2010 sobre decesos relacionados con mercurio en todo el país

(Datos no normalizados debido a la ausencia de parámetros estadísticos)

Fuente: elaboración propia con datos del INEGI, Instituto nacional de salud pública, IMSS e ISSSTE

Los datos estadísticos encontrados hasta el momento, indican que los problemas de salud relacionados a metales pesados tienden, en el caso del plomo y arsénico, a aumentar; quizás debido al desarrollo industrial de las regiones que lo padecen o a la falta de interés gubernamental por atacar el problema. Para el caso de mercurio, es clara su tendencia a disminuir aunque no es claro si el problema sólo se ha estacionado o no está del todo diagnosticado.

Objetivo general

Desarrollar un sistema de detección y cuantificación de metales pesados presentes en sangre y agua que puedan ser revelados, de forma indirecta, mediante niveles de detección de radiación ultravioleta emitidos por un fluoróforo.

Objetivos específicos

- Desarrollar y/o implantar la metodología para la preparación de muestras de agua con algún agente químico fluorescente selectivo que aplique para metales pesados.
- Diseñar y construir un detector de emisión UV con discriminación de señal para diagnóstico de algún contaminante químico específico referido a metales pesados.
- Calibrar el sistema de diagnóstico en un grupo piloto de muestras específicas normales y contaminadas.
- Uso de sistema de diagnóstico en población abierta para evaluar costo/beneficio.
- Determinar el impacto social y de salud en el uso del detector para diagnóstico de enfermedades en población humana.

Pregunta de investigación

¿Pueden detectarse y, en su caso, medirse la presencia de un metal pesado como plomo, arsénico y/o mercurio en sangre y agua a nivel de ppm o ug/lit que no requiera una marcha analítica sofisticada y en el que se utilice radiación ultravioleta con un equipo portátil y de bajo costo?

Hipótesis

La radiación ultravioleta puede incidir en una muestra biológica u orgánica acuosa previamente tratada con un compuesto que emita radiación no ionizante, mediante el uso de un fluoróforo, que esté anclado a un metal como plomo, arsénico y/o mercurio. El nivel de radiación emitido por la muestra puede indicar, cualitativa y cuantitativamente, si existe o no algún contaminante.

Metodología

Partiendo de un análisis general, y considerando la complejidad del proyecto, el mismo estará dividido en dos fases:

1. Caracterización y desarrollo de la marcha analítica:
 - Investigación documental a fin de poder determinar cuál es el estado del arte en el uso de las técnicas fluorométricas.
 - Determinación de la marcha analítica que sea reproducible para el anclaje de un fluoróforo en un metal considerado contaminante.
 - Caracterización y preparación de muestras: tipos de contaminantes en sangre, métodos de detección comunes, formas y métodos susceptibles de marcado para elementos tóxicos en sangre, metodologías para el caracterizado y marcado de contaminantes.
2. Caracterización y desarrollo del instrumento detector en el rango de UV visible.
 - Investigación documental sobre tecnologías aplicadas en equipos de detección para metales pesados.
 - Caracterización de las tecnologías en para el instrumento de detección propuesto.
 - Instalación, electrónica y pruebas de la fuente de emisión y del elemento de detección.
 - Pruebas, calibración y desarrollo de la interface.

Una vez definidas las marchas analíticas de prueba, se verificarán las evidencias del desarrollo colorimétrico; con ello, y a partir de ese momento, las fases de definición de la marcha analítica óptima y el desarrollo de aparato detector, correrán en paralelo para pruebas, ajustes y calibraciones.

Productos esperados

- Artículo para publicación
- Metodología para la preparación de muestras
- Detector de fluorescencia operable con luz UV
- Documento de tesis

Posibles destinos de publicación

- Analytica Chimica Acta
- Talanta
- Spectroscopy letters
- Journal of Spectroscopy
- Journal of Applied Spectroscopy
- Journal of Mexican Chemical Society
- Physical Medicine and Rehabilitation
- Physics in Medicine and Biology

Cronograma

Desarrollo y construcción de un detector UV para la medición de metales pesados en sangre y agua

Codirectores:		Dr. Luis Manuel Montaña Zetina Dr. Carlos Hoyo Vadillo					
Asesores:		Dr. David Elias Viñas Dr. Ernesto Suaste Gómez					
General	Específicos	Ago 2013 Feb 2014 SEMESTRE 1	Mar - Ago 2014 SEMESTRE 2	Ago 2014 Feb 2015 SEMESTRE 3	Mar - Ago 2015 SEMESTRE 4	Ago 2015 Feb 2016 SEMESTRE 5	Marz- Ago 2016 SEMESTRE 6
Investigación documental	Libros especializados Revistas especializadas Patentes	[Gantt chart bars for this task]					
Desarrollo metodológico para la preparación de muestras	Entrevistas con expertos Búsqueda de la(s) marcha(s) analítica(s) Caracterización de la(s) marcha(s) Preparación de muestras Depuración y mejoramiento	[Gantt chart bars for this task]					
Diseño y construcción del detector de fluorescencia	Diseño mecánico Diseño electrónico Calibraciones Pruebas	[Gantt chart bars for this task]					
Desarrollo del documento de investigación (TESIS)	Desarrollo de la tesis Presentación de examen predoctoral Publicación en revista especializada Examen doctoral.	[Gantt chart bars for this task]					

Referencias

1. **Infante, Oscar.** Corazón, aspectos de su funcionamiento y propiedades físicas. [aut. libro] Leopoldo. Coordinador García Colín. *Introducción a la física biológica*. México : El Colegio Nacional, 2010.
2. **Villalobos, Sonia. Alijama, Tomás y González, Ramón.** Aspectos físicos y análisis cuantitativo del sonido respiratorio. [aut. libro] Leopoldo. Coordinador García Colín. *Introducción a la física biológica*. México : El Colegio Nacional, 2010.
3. **Mozurkewich E, Wolf FM.** La Biblioteca Cochrane Plus. [En línea] Gobierno de España. Ministerio de sanidad, servicios sociales e igualdad., 30 de Mayo de 2000. [Citado el: 26 de Agosto de 2013.] <http://www.update-software.com/BCP/BCPGetDocument.asp?DocumentID=CD002254>.
4. *Capillary scale liquid core waveguide based fluorescence detectors for liquid.* **Guanqun Song, Ignacio Villanueva-Fierro¹, Shin-Ichi Ohira, Santosh Mishra,** 77, s.l. : Talanta, 2008.
5. Wikipedia. [En línea] 13 de Julio de 2013. [Citado el: 16 de Agosto de 2013.] <http://es.wikipedia.org/wiki/Espectroscopia>.
6. **Owen, Tony.** *Fundamentos de espectroscopía UV- moderna. Conceptos básicos.* Alemania : Agilent Technologies, 2000.
7. **Gribbin, John.** *Historia de la ciencia.* Barcelona : Crítica, 2001.
8. **Bensaude-Vincent, Bernadette.** Mendeleiev: historia de un descubrimiento. [aut. libro] Michel Serres. *Historia de las ciencias.* Madrid : Crítica, 1991.
9. Wikipedia. [En línea] 2 de julio de 2013. [Citado el: 17 de Agosto de 2013.] http://es.wikipedia.org/wiki/Espectroscopia_ultravioleta-visible.
10. *Aplicaciones clínicas de la espectroscopia de protón por resonancia magnética in vivo en el estudio de astrocitomas; estado actual.* **Mendez, J.C.** 39, s.l. : Medical Research, 2013.
11. **Méndez, Carmen y Camacho, Alejandro.** Espectrometría de fluorescencia de rayos X. *Aventuras del pensamiento.* Hermosillo : Facultad de ciencias químicas, Universidad Autónoma de Chihuahua, 2009.
12. **Richland, Wash.** PNNL News. [En línea] 12 de Febrero de 2008. [Citado el: 19 de Agosto de 2013.] [ww.pnl.gov/news/release.aspx?id=297](http://www.pnl.gov/news/release.aspx?id=297).
13. INEGI. [En línea] 14 de enero de 2013. <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/temas/default.aspx?s=est&c=21385>.

14. Instituto Mexicano del Seguro Social. [En línea] 17 de enero de 2013. [Citado el: 17 de Enero de 2013.] <http://www.imss.gob.mx/imssdigital/Pages/contacto.aspx#>.

15. **Yelin, Dvir**. Biomedical Optics Laboratory. [En línea] Department of Biomedical Engineering, October de 2010. [Citado el: 10 de Septiembre de 2010.] <http://yelin.bm.technion.ac.il/researchZoom.asp?13>.

Bibliografía

E. B. Podgorsak, *Biological and Medical Physics. Biomedical Engineering: Radiation Physics for Medical Physicist*, Springer Verlag (2006).

M. Ruiz-Rubio yA. Sola, "La Física y la Biología: metas y métodos de la Biofísica", *Revista Española de Física*, **vol. 18**, 28-33 (2004).

E.P. Bertin, *Principles and Practices of X-ray Spectrometric Analysis*, 2nd ed. (Plenum Press, New York, 1975).

R. Jenkins, *X-ray Fluorescence Spectrometry*, 2nd ed. (John Wiley & Sons, New York, New York, 1999)

R. Jenkins and J.L. de Vries, *Practical X-ray Spectrometry*, 2nd ed. (Springer-Verlag, New York, New York, 1969).

J.A. Anzelmo and J.A. Lindsay, *J. Chem. Educ.* 64(8), A181–A185 (1987).