

CIENCIA 22(3), 171 - 181, 2014
Maracaibo, Venezuela

Métodos analíticos para la determinación total de calcio, litio y magnesio en suero sanguíneo de pacientes psiquiátricos por espectrometría de absorción atómica con llama

Víctor A. Granadillo^{1*}, Minerva C. Rodríguez¹, Denny R. Fernández¹, Florann Millán^{1,2},
María A. Ochoa^{1,2}, Camilo J. García¹, Aracelis del C. Vásquez¹ y Wilberto D'Lima¹

¹Laboratorio de Instrumentación Analítica, Departamento de Química, Facultad Experimental de Ciencias. ²Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina. Universidad del Zulia. Maracaibo 4011, Venezuela.

Recibido: 06-02-13 Aceptado 15-07-14

Resumen

Se presenta la optimización de los métodos analíticos para la determinación total de Ca, Li y Mg en suero sanguíneo de pacientes psiquiátricos (PP) usando FAAS. Se recolectaron 95 muestras de suero: 35 de PP que consumían carbonato de litio y 60 de pacientes controles (C). La exactitud se verificó analizando el material certificado de referencia: Suero Humano (NIST USA, No. SRM-909), obteniendo errores relativos < 5% entre los valores experimentales y teóricos; además, este parámetro también se evaluó mediante estudios de recuperación encontrando porcentajes medios de recuperación entre 95 y 105%. La precisión analítica se evaluó realizando estudios de precisión calculando una DER promedio de 1,31% (ca. < 5%). Los límites de detección (3σ) y de cuantificación (10σ) fueron 0,02 y 0,0667 mg/L; 0,01 y 0,0333 mg/L; y 0,002 y 0,0067 mg/L para Ca, Li y Mg, respectivamente. Las concentraciones características (C_0) fueron 0,06 mg/L (Ca); 0,002 mg/L (Li) y 0,004 mg/L (Mg). Las concentraciones séricas de Ca, Li y Mg (mg/L, media \pm DE) para los PP fueron $123,26 \pm 19,54$; $3,87 \pm 3,28$ y $17,45 \pm 4,65$, respectivamente; y para los C: $133,79 \pm 18,09$; < 0,001 (límite de detección) y $15,91 \pm 1,42$, respectivamente. Los métodos desarrollados para la determinación total de Ca, Li y Mg por FAAS en suero sanguíneo de PP y C fueron exactos, precisos y libres de interferencias; constituyéndose en herramientas viables de análisis para los laboratorios clínicos.

Palabras clave: calcio, espectrometría de absorción atómica con llama, litio, magnesio, suero sanguíneo.

Analytical methods for the total determination of calcium, lithium and magnesium in blood serum of psychiatric patients by flame atomic absorption spectrometry

Abstract

The optimization of the analytical methods for the total determination of Ca, Li and Mg in blood serum of psychiatric patients (PP) by using FAAS was done. They were recollected 95

* Autor para la correspondencia: vgranadillo@luz.edu.ve

samples of serum: 35 from PP who consumed lithium carbonate and 60 controls. The accuracy was verified by analyzing certified reference material: Human Serum (NIST USA, No. SRM-909), obtaining relative errors <5% between experimental and theoretical values; in addition, this parameter was also evaluated by recovery studies finding mean recovery percentage between 95 and 105%. Analytical precision was evaluated by performing precision studies found a mean DER of 1.31% (ca. <5%). The detection limits (3σ) and quantification (10σ) were 0.02 and 0.0667 mg/L, 0.01 and 0.0333 mg/L, and 0.002 and 0.0067 mg/L for Ca, Li and Mg, respectively. Characteristics concentrations (Co) were 0.06 mg/L (Ca), 0.002 mg/L (Li) and 0.004 mg/L (Mg). Serum Ca, Li and Mg (mg/L, mean \pm SD) for PP were: 123.26 ± 19.54 , 3.87 ± 3.28 and 17.45 ± 4.65 , respectively, and for C: 133.79 ± 18.09 , <0.001 (detection limit) and 15.91 ± 1.42 , respectively. The methods developed for the determination of total Ca, Li and Mg by FAAS in blood serum of PP and C were accurate, precise and free from interferences; becoming viable tools of analysis in the clinical laboratories.

Keywords: blood serum, calcium, flame atomic absorption spectrometry, lithium, magnesium.

Introducción

En los últimos años, la química analítica clínica ha desempeñado un papel fundamental en el tratamiento de enfermedades psiquiátricas tales como: desórdenes bipolares, manías o psicosis severas (1, 2). Estas enfermedades se definen y visualizan por presentar excitación, debido a un trastorno del humor y se caracterizan por una gran dispersión de la atención (3-5). Ellas afectan a un significativo número de pacientes y tienen varios síntomas tales como: hiperactividad, alteración del estado de ánimo, insomnio, y cambios en el patrón del sueño, entre otros (6). Las principales psicosis o manías son: esquizofrenia, depresión grave y desórdenes bipolares (3, 6). Para el tratamiento terapéutico de estas enfermedades psiquiátricas se emplean sales de litio (Li), que permiten mantener al paciente maniaco en estado equilibrado (6). Este catión monovalente juega un papel múltiple e importante en el sistema nervioso central (7, 8). Sin embargo, desbalances en las concentraciones intra o extracelulares de éste se consiguen en algunas enfermedades psiquiátricas y neurológicas, y pueden estar relacionados con los mecanismos patogénicos de las mismas, afectando así las concentraciones de los iones divalentes de mayor interés en el organismo humano como el calcio (Ca) y el

magnesio (Mg) (9-11), actuando como un antagonista de estos dos elementos esenciales en el organismo humano (9).

El litio (Li) es un metal alcalino, no esencial en el organismo, cuyas sales se utilizan en el tratamiento de enfermedades maniaco depresivas (12). Sus valores terapéuticos van de 0,3 a 1,6 mEq Li/L (ca. de 2,1 a 11,1 mg Li/L) (12). Es posible que exista una competencia entre el Li y el Mg que podría influir en los sistemas que contienen fosfatos y por el pequeño tamaño del Li, él tiene fácil acceso a sitios de regulación; por lo tanto, va a interferir en procesos habitualmente dependientes de cationes como Ca y Mg, lo cual aún no está completamente definido (6, 12).

El Li se introdujo en psiquiatría a partir del año 1949 para el tratamiento de las enfermedades maniaco depresivas. Sin embargo, su uso no fue aceptado en los Estados Unidos, debido a la resistencia de los médicos de ese país para aceptar que el tratamiento era inocuo (6). Actualmente, existen evidencias científicas sobre la inocuidad y eficacia de sus sales para el tratamiento de la manía y para la prevención de ataques recurrentes de padecimientos maniacodepresivos (6-9). A pesar de la efectividad del tratamiento con litio en trastornos psiquiátricos, su uso en nuestra región se ha visto limitado debido a

que posee un índice terapéutico muy bajo. Así, su dosis terapéutica es muy cercana a su dosis tóxica; por lo tanto, es necesario realizar monitoreos constantes para evitar intoxicación por el mismo (9). Además, el litio es un metal no esencial en nuestro organismo, razón por la cual no se han reportado valores referenciales del mismo en ningún fluido biológico proveniente de un individuo sano. Asimismo, el Li puede tener fácil acceso a sitios de control y regulación por su alta reactividad y su pequeño tamaño, interfiriendo eventualmente en otros procesos dependientes de cationes como calcio, magnesio, potasio y sodio; y actuando como antagonista de los mismos (4, 9).

El Ca es un ion divalente que predomina en el interior de las células y es fundamental para muchas funciones biológicas. Es muy importante en la conducción nerviosa, en la excitabilidad de la placa neuromuscular, es indispensable para establecer el potencial de membrana en las células excitables, forma parte del mecanismo secretor de diversas hormonas y de muchas enzimas citoplasmáticas (13). También funciona como segundo mensajero intracelular, de manera similar al adenosín monofosfato cíclico o AMPc (13, 14). Cuando los niveles de calcio ionizado son anormalmente elevados en el líquido extracelular puede aparecer debilidad, letargia y coma (15, 16), las concentraciones del mismo se ven afectadas cuando está presente el litio en altas concentraciones (17).

Por su parte el Mg desempeña diversas funciones en el organismo. A nivel intracelular desempeña un papel importante en la fisiología celular y cataliza diversas reacciones enzimáticas, participa en el metabolismo de carbohidratos, ácidos nucleicos y proteínas (15). La deficiencia del magnesio es relativamente frecuente en pacientes hospitalizados. En el síndrome de malabsorción se excreta magnesio en heces en forma de jabón, también produce pérdida de Mg la terapéutica con diuréticos en casos de problemas renales, la producción excesiva de aldosterona, y el hiperparatiroidismo primario, en el cual la

parathormona inhibe la reabsorción de magnesio en los túbulos renales (15, 17). El aumento de los niveles de Mg suprime la liberación de acetilcolina y bloquea la transmisión de la unión neuromuscular (18), las concentraciones del mismo están relacionadas con la presencia de litio en el organismo (17). Por lo tanto, es importante desarrollar metodologías analíticas para la determinación de las concentraciones séricas de Ca, Li y Mg para evaluar la influencia de las concentraciones de litio sobre estos cationes esenciales ya que los mismos se encuentran relacionados entre sí, empleando técnicas analíticas exactas, precisas, robustas y libres de interferencias, como la espectrometría de absorción atómica con llama (FAAS). Esta técnica es la más utilizada para determinar Ca, Li y Mg en muestras biológicas, clínicas, ambientales y alimenticias, entre otras, ya que permite la determinación de metales a concentraciones trazas presentando alta sensibilidad, se utilizan pequeños volúmenes de muestra, los costos de análisis son relativamente bajos y los problemas de contaminación son minimizados (19, 20).

En consecuencia, es importante el desarrollo de métodos analíticos para la determinación total de Ca, Li y Mg en suero sanguíneo de pacientes psiquiátricos empleando técnicas instrumentales de análisis, los cuales sean confiables, reproducibles, libres de interferencias, económicos y robustos; garantizando su presencia y operatividad en las instituciones clínicas que requieran este tipo de análisis químico; por lo tanto, se emplea la técnica de la FAAS. Sin embargo, es importante resaltar la escasez de literatura actualizada sobre métodos analíticos para estos tres metales en las revisiones bibliográficas llevadas a cabo; tal vez, relacionada al carácter rutinario de estos análisis en la mayoría de los laboratorios clínicos y subclínicos, lo cual perjudica el desempeño y la calidad analítica reflejado en la obtención de valores experimentales para las principales propiedades analíticas (e.g., precisión, exactitud, control de interferencias, sensibilidad

y detectabilidad, entre otras) sin significado científico.

En este trabajo se presenta la optimización analítica de los métodos para la determinación total de calcio, litio y magnesio en suero sanguíneo de pacientes con desórdenes psiquiátricos y población control por espectrometría de absorción atómica con llama.

Parte experimental

Equipos

Para la determinación analítica de Ca, Li y Mg se utilizó un espectrofotómetro de absorción atómica, marca Perkin-Elmer (USA), modelo 2380, en el modo instrumental de la espectrometría de absorción atómica con llama (FAAS). Las condiciones operacionales (o parámetros instrumentales) usados para cada metal se indican en la tabla 1. Las masas de las sales para preparar gravimétricamente las soluciones concentradas (ca. 1000 mg/L) de los analitos estudiados se pesaron en una balanza analítica Mettler (USA), modelo AE-240 (ca. sensibilidad = $\pm 0,0001$ g). Los volúmenes se midieron con pipetas volumétricas marca Gibson (Francia), modelos Pipetman P-100, P-200, P-1000 y P-5000.

Reactivos

Todos los reactivos utilizados fueron de grado analítico. Todas las soluciones estándar se prepararon en una matriz de ácido nítrico (HNO_3) 0,01 M. Las soluciones concentradas de Ca, Li y Mg (ca. 1000 mg/L) se

prepararon a partir de las sales de alta pureza de los respectivos metales [e.g., sulfato de calcio (CaSO_4); cloruro de litio (LiCl) y sulfato de magnesio (MgSO_4), respectivamente]. Las soluciones patrones se prepararon diariamente usando agua desionizada grado I ASTM (20) en HNO_3 0,01 M [Riedel-de Haën (Alemania) o Fisher Scientific Co. (USA)]. Se preparó una solución de lantano concentrada a partir de nitrato de lantano, $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ [(Aldrich, (USA)] para preparar los patrones acuosos y las muestras para la determinación de calcio y magnesio total, controlando las interferencias químicas producidas por los fosfatos. Los patrones empleados en la preparación de la curva de trabajo para ambos analitos fueron: 1,5; 2,5; 3,5; 4,5 y 5,5 mg Ca/L; 0,5; 1,5; 2,5; 3,5 y 4,5 mg Li/L; y 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 y 0,5 mg Mg/L. Estos patrones se prepararon a partir de soluciones intermedias de 100 mg/L de cada uno de los metales estudiados. Para la dilución de las muestras de suero sanguíneo se empleó agua grado I ASTM, en balones aforados de polietileno lineal (Nalgene, USA). El ácido nítrico concentrado (Riedel-de Haën o Fisher Scientific Co.) contenía concentraciones de Ca, Li y Mg no detectables por FAAS. La evaluación de la exactitud de los métodos se realizó a través del análisis de un patrón certificado: Suero Humano del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (USA), NIST No. SRM-909, y mediante estudios de recuperación.

Muestras

Se recolectaron 95 muestras de suero sanguíneo de las cuales 35 fueron de pa-

Tabla 1
Parámetros operacionales para la determinación total de calcio, litio y magnesio por espectrometría de absorción atómica con llama (23)

Metal	Longitud de onda	Slit ^a (nm)	Modo espectral ^b	Tipo de llama
Ca	422,7	0,7	AA	Aire/Acetileno
Li	670,8	0,7	AA	Aire/Acetileno
Mg	285,2	0,7	AA	Aire/Acetileno

^a Anchura de banda espectral. ^b Absorción atómica.

cientes con desórdenes psiquiátricos que recibían tratamiento con litio, remitidos por diferentes médicos psiquiatras de la región zuliana; y 60 especímenes sanguíneos fueron obtenidos de sujetos sanos que conformaron el grupo control. La población muestreada para este estudio tenía edades comprendidas entre 33 y 76 años. A todos los individuos muestreados se les realizaron encuestas sobre los datos personales para facilitar la correlación de los hallazgos analíticos con los parámetros personales de interés. Asimismo, cada paciente o pariente autorizó la toma de muestra, según formato diseñado para tal finalidad por un Comité *Ad Honorem* conformado por los asesores clínicos sobre el manejo ético de la información suministrada por los pacientes y el procesamiento de sus datos y muestras. Para la obtención de las muestras de suero, se tomaron muestras de sangre completa (ca. 15 mL) con jeringas desechables y se colocaron en un tubo de polipropileno con tapa a presión, libre de anticoagulante; luego de la retracción del coágulo, la muestra se centrifugó y se separó el suero. Los especímenes de suero sanguíneo se colocaron en tubos de polipropileno tapados a presión y se almacenaron a 4°C hasta la realización del análisis espectroquímico, dentro de las siguientes 48 horas.

Métodos analíticos

Las determinaciones analíticas totales de Ca, Li y Mg se realizaron empleando la FAAS, optimizando con diferentes ensayos experimentales los métodos de análisis y el tratamiento de las muestras. En tal sentido, se empleó el método de adición estándar con la finalidad de estudiar la existencia o no de las interferencias del tipo no espectrales (también conocidas como interferencias químicas o de matriz). El método de adición estándar se realizó adicionando volúmenes de concentraciones variables de cada uno de los metales estudiados (e.g., 1,5; 2,5 y 3,5 mg Ca/L; 0,5; 1,5 y 2,5 mg Li/L; y 0,1; 0,2 y 0,3 mg Mg/L) a las muestras de suero sanguíneo bajo estudio, permitiendo con este méto-

do corroborar el empleo de la curva de calibración como medio para la cuantificación de estos metales. Para comprobar la exactitud de los métodos analíticos se realizaron en cada caso los estudios de recuperación respectivos. Así, se seleccionaron tres niveles de fortificación o enriquecimiento (e.g., bajo, medio y alto) para cada analito en cada muestra fortificada o enriquecida, realizando estos experimentos por pentuplicado (21).

La cuantificación de Ca, Li y Mg se realizó por curvas de calibración preparadas con patrones en ácido nítrico 0,01 M, una vez evaluadas las interferencias no espectrales. Los patrones empleados para la curva de calibración se elaboraron diariamente en cada determinación. Los patrones para cada metal (e.g., 1,5; 2,5; 3,5; 4,5 y 5,5 mg Ca/L; 0,5; 1,5; 2,5; 3,5 y 4,5 mg Li/L; y 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 y 0,5 mg Mg/L) se prepararon por dilución seriada de las soluciones concentradas a partir de patrones de 1000 mg/L de cada metal. Las muestras se diluyeron 80X para las determinaciones totales de Ca y Mg, y 10X para la determinación de litio y, aforando en balones de 25 y 10 mL, respectivamente, luego se trasvasaron a recipientes de 125 mL de polietileno lineal (Nalgene, USA). Para evaluar la precisión (repetibilidad y reproducibilidad) de los métodos analíticos, cada muestra se preparó por triplicado y se recolectó su lectura de absorbancia por pentuplicado, obteniendo para cada porción de prueba (o unidad experimental) la media aritmética (X), la desviación estándar (DE) y la desviación estándar relativa [$DER = (DE/X) \times 100$].

Análisis estadístico

Todas las evaluaciones estadísticas se realizaron por métodos convencionales (e.g., correlación lineal de Pearson, t de student, y análisis de varianza, entre otros), con la ayuda de programas estadísticos comerciales (e.g., Statistical y Origen 6.0, entre otros), y las diferencias se consideraron estadísticamente significativas a $p \leq 0,05$.

Resultados y discusión

Optimización de los métodos analíticos

Se optimizaron los parámetros analíticos de mérito de los métodos propuestos para la determinación total de Ca, Li y Mg, obteniendo herramientas de análisis confiables, reproducibles y aplicables debido a la importancia clínica que tienen estos elementos químicos en el desarrollo y crecimiento del ser humano. En tal sentido, se evaluaron la exactitud, la precisión, el tratamiento matemático-estadístico de las curvas de calibración, las interferencias no espectrales, el límite de detección, el límite de cuantificación, la sensibilidad instrumental y la aplicabilidad analítica de cada uno de los métodos propuestos en esta investigación, garantizando de esta manera la calidad analítica de los mismos.

Exactitud

La exactitud de los métodos espectrométricos empleados para la determinación analítica de los analitos considerados se verificó analizando el material certificado de referencia: Suero Humano, del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología, NIST USA, No. SRM-909. Los resultados obtenidos en este estudio se presentan en la tabla 2, observándose similitud entre los valores experimentales y los valores teóricos, con errores

relativos menores al 5% implicando niveles de exactitud del $100 \pm 5\%$. En tal sentido, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ellos, evidenciando la adecuada exactitud en las determinaciones analíticas para los tres metales considerados en esta investigación. Además, este parámetro también se evaluó mediante estudios de recuperación de los analitos en las muestras de suero, determinados por FAAS. En este estudio, la determinación total de Ca, Li y Mg en las muestras fortificadas o enriquecidas (tres niveles de fortificación o enriquecimiento) de suero sanguíneo se realizó por triplicado, tomando las lecturas de absorbancia en el espectrofotómetro por pentaplicado. Los porcentajes promedios de recuperación para Ca, Li y Mg fueron $101,90 \pm 1,56$; $98,85 \pm 2,38$ y $100,70 \pm 1,66\%$, respectivamente (tabla 3), evidenciando nuevamente la adecuada exactitud de los métodos empleados.

Precisión

La precisión analítica se evaluó realizando estudios de precisión en la corrida o en la racha (repetibilidad analítica) y entre corridas o entre rachas (reproducibilidad analítica) para los métodos espectrométricos de Ca, Li y Mg, expresando la misma a través de la desviación estándar y la desviación estándar relativa (%) (22). En la tabla 4 se muestran los valores para los estudios de precisión para las determinaciones tota-

Tabla 2
Estudio de exactitud para la determinación total de Ca, Li y Mg en muestras de suero sanguíneo de pacientes psiquiátricos por FAAS

Material certificado de referencia	Metal	Concentración promedio \pm DE, mg/L		Error relativo (%)
		Valor certificado	Valor experimental	
SRM 909 ^a	Ca	120,000 \pm 3,530	120,150 \pm 0,790	0,12
	Li	11,450 + 0,347	11,470 \pm 0,320	0,18
		- 0,277		
	Mg	29,400 + 1,220	28,400 \pm 0,110	3,40
		- 0,730		

^aSuero Humano, NIST: Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (USA).

Tabla 3
Estudio de recuperación para la determinación total de Ca, Li y Mg en muestras de suero sanguíneo de pacientes psiquiátricos por FAAS

Metal	Concentración (mg/L)	Adicionado (mg/L)	Esperado (mg/L)	Encontrado (mg/L)	Error (%)
Ca	1,75	1,45	3,20	3,32	103,7
		2,50	4,25	4,29	100,9
		3,55	5,30	5,36	101,1
X ± DE: 101,9 ± 1,56					
Li	0,75	0,50	1,25	1,27	101,6
		1,55	2,30	2,24	97,4
		2,55	3,30	3,22	97,6
X ± DE: 98,85 ± 2,38					
Mg	0,191	0,096	0,287	0,293	102,1
		0,184	0,375	0,380	102,3
		0,280	0,471	0,466	98,9
X ± DE: 100,70 ± 1,66					

Tabla 4
Estudio de precisión para la determinación total de Ca, Li y Mg en muestras de suero sanguíneo de pacientes psiquiátricos por FAAS

Metal	Concentración media ^a (mg/L)	En la corrida (Repetibilidad analítica)		Entre corridas (Reproducibilidad analítica)	
		DE (mg/L)	DER (%)	DE (mg/L)	DER (%)
Ca	1,23	0,0021	0,17	0,036	2,93
	1,30	0,0116	0,89	0,035	2,69
	1,20	0,0094	0,78	0,020	1,66
Li	0,39	0,0002	0,05	0,008	2,05
	0,52	0,0040	0,77	0,011	2,11
	0,39	0,0070	0,79	0,017	4,36
Mg	0,20	0,0010	0,50	0,002	1,00
	0,22	0,0010	0,45	0,003	1,36
	0,19	0,0005	0,26	0,002	1,05

^a Muestras diluidas: 80X para Ca y Mg, y 10X para Li, preparadas por triplicado y leídas sus absorbancias por pentaplicado.

les de los metales estudiados: Ca, Li y Mg, expresados como desviación estándar (DE, mg/L) y desviación estándar relativa (DER, %). La precisión se evaluó en las muestras de suero diluidas. Tres alícuotas de cada

muestra seleccionada de suero (ca. 1-5 mL) fueron preparadas por triplicado, y las determinaciones espectrométricas de Ca, Li y Mg en éstas se hicieron por pentaplicado. Para todos los metales (e.g., Ca, Li y Mg) la DER

promedio fue 1,31% (ca. < 5%). En el estudio de precisión (repetibilidad y reproducibilidad analítica), la DER media para Ca, Li y Mg fue de 2,4; 2,9 y 1,0%, respectivamente. Estos resultados demuestran que los métodos analíticos empleados fueron altamente reproducibles y adecuados para estos tipos de análisis.

Curvas de calibración

El método de cuantificación analítica de la curva de calibración es muy utilizado en la FAAS con la finalidad de conocer el intervalo lineal óptimo de trabajo para cada elemento químico estudiado. En tal sentido, se optimizaron las curvas de calibración para Ca, Li y Mg, obteniendo resultados que permitieron delimitar el intervalo lineal óptimo de trabajo para cada uno de ellos. Para el Ca, se tomó como intervalo lineal óptimo de trabajo desde 0,0 hasta 5,5 mg Ca/L; para el Li, desde 0,0 hasta 4,5 mg Li/L; y para Mg se trabajó entre 0,0 y 0,5 mg Mg/L. Cabe mencionar que las ecuaciones lineales de las curvas de calibración para el Ca, Li y Mg fueron $A = 0,0419 c + 0,0008$ ($r = 0,9998$), $A = 0,1528 c + 0,0244$ ($r = 0,9995$), y $A = 0,6806 c + 0,0055$ ($r = 0,9997$), respectivamente, destacando valores altamente significativos para el coeficiente de correlación lineal de Pearson (r) para cada uno de ellas, pudiendo transformar matemáticamente las absorbancias obtenidas para las porciones de prueba

de las muestras reales de suero sanguíneo de pacientes psiquiátricos a concentraciones de los analitos estudiados.

Estudios de interferencias no espectrales

El estudio de interferencias no espectrales (errores multiplicativos) se llevó a cabo a través del método de adición estándar o adición del analito para cada uno de los tres metales. Este estudio se realizó comparando las pendientes de las curvas de calibración, en matriz de ácido nítrico 0,01 M, con aquellas obtenidas por el método de adición estándar en las muestras de suero. El método de adición estándar se utilizó para la cuantificación metálica, así como para la evaluación de las interferencias no espectrales. En la tabla 5 se muestran las ecuaciones matemáticas para las curvas de calibración y adición estándar obtenidas para la determinación de Ca, Li y Mg, respectivamente, con pendientes estadísticamente indistinguibles ($p \leq 0,05$) de las curvas de calibración acuosas para los tres metales bajo estudio. Se observó un excelente paralelismo entre las pendientes obtenidas para cada metal tanto en la curva de calibración como en la adición estándar. En cada caso, al comparar las pendientes obtenidas de los gráficos de las curvas de calibración y de adición estándar para el Ca, Li y Mg, se obtuvieron porcentajes de error menores al 5% entre las pendientes, lo cual evidencia la ausencia de interferencias no espectrales en

Tabla 5

Valores obtenidos para los parámetros de la ecuación en la curva de calibración y en la curva de adición estándar en la determinación total de Ca, Li y Mg por FAAS

Metal	Ecuación de la Curva de Calibración	Ecuación de la Curva de Adición Estándar	Error ^a (%)
Ca	$A = 0,0419 c + 0,0008$ ($r=0,9998$)	$A = 0,0430 c + 0,0079$ ($r=0,9997$)	2,63
Li	$A = 0,1528 c + 0,0244$ ($r=0,9995$)	$A = 0,1526 c + 0,3523$ ($r=0,9997$)	0,13
Mg	$A = 0,6806 c + 0,0055$ ($r=0,9997$)	$A = 0,6840 c + 0,1484$ ($r=0,9998$)	0,15

^a Error relativo entre los valores de las pendientes.

las determinaciones analíticas de los metales estudiados en las muestras de suero.

Límites de detección, límites de cuantificación y sensibilidad instrumental

Los límites de detección (expresados como tres veces la desviación estándar del blanco, 3σ) fueron 0,02 mg/L para el Ca; 0,01 mg/L para el Li y 0,002 mg/L para el Mg; los límites de cuantificación (expresados como diez veces la desviación estándar del blanco, 10σ) fueron 0,0667 mg/L para el Ca, 0,0333 mg/L para el Li y 0,0067 mg/L para el Mg, respectivamente; y las concentraciones características (C_0) de estos elementos requeridas para producir una absorción del 1% (lo cual equivale a una señal de 0,0044 unidades de absorbancia) fueron 0,06 mg/L para el Ca; 0,002 mg/L para el Li y 0,004 mg/L para el Mg (tabla 6). Además, en la misma tabla se muestran los valores de los L_D y las C_0 reportados en la literatura. Los L_D obtenidos con los métodos empleados en esta investigación fueron mayores a los reportados por otros autores, mientras que las C_0 encontradas fueron menores a las reportadas, lo cual sugiere que los métodos empleados presentaron adecuados niveles de detectabilidad, cuantificabilidad y sensibilidad analítica (23).

Aplicabilidad analítica

Los métodos desarrollados se emplearon para la determinación de las concentraciones de Ca, Li y Mg en muestras de suero sanguíneo de población control y pacientes con desorden psiquiátrico. Cabe mencionar que entre paréntesis, se indican los valores hallados expresados en unidades mEq/L, ya que éstas son ampliamente usadas por los profesionales de las ciencias médicas para su interpretación clínica. Los pacientes psiquiátricos presentaron un valor promedio de $123,26 \pm 19,54$ mg Ca/L (ca. $6,15 \pm 0,98$ mEq/L); $3,87 \pm 3,28$ mg Li/L (ca. $0,56 \pm 0,47$ mEq/L) y $17,45 \pm 4,65$ mg Mg/L (ca. $1,44 \pm 0,38$ mEq/L). La población control presentó un valor promedio de $133,79 \pm 18,09$ mg Ca/L (ca. $6,68 \pm 0,9$ mEq/L), las concentraciones de Li fueron no detectables ($L_D = 0,01$ mg/L ó $0,001$ mEq/L) y $15,91 \pm 1,42$ mg Mg/L (ca. $1,31 \pm 0,12$ mEq mg/L). Los estadísticos determinados (e.g., media, desviación estándar, coeficiente de variación, etc.) para los niveles totales de Ca, Li y Mg obtenidos para las poblaciones estudiadas, permitieron establecer las características de las mismas. Se observaron coeficientes de variación elevados para ambas poblaciones, lo cual es aceptado por ser grupos heterogéneos conformados por seres humanos con actividades y hábitos diferentes. Para Ca y

Tabla 6
Límite de detección, de cuantificación y sensibilidad instrumental para la determinación total de Ca, Li y Mg en suero sanguíneo de pacientes psiquiátricos por FAAS

	Metales		
	Ca	Li	Mg
Límite de detección ^a (mg/L)	0,0220 (0,00100) [ca. 0,00100 (0,00005)] ^c	0,0090 (0,00030) [ca. 0,00100 (0,00004)] ^c	0,0002 (0,00001) [ca. 0,00002 (0,00001)] ^c
Límite de cuantificación (mg/L)	0,0667	0,0333	0,0067
Concentración característica ^b (mg/L)	0,0621 (0,080)	0,0287 (0,030)	0,0040 (0,010)

^a Los valores entre paréntesis fueron tomados de la referencia 24. ^b Los valores entre paréntesis fueron tomados de la referencia 23. ^c En mEq/L.

Mg séricos, el test estadístico t de student indicó diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,025$) con un límite de confianza del 97,5% y 2,5% de error entre los pacientes psiquiátricos estudiados y la población control. La población psiquiátrica presentó niveles de calcio total menores que los obtenidos para la población control ($p < 0,025$), y niveles de magnesio total mayores que los hallados en la población control ($p < 0,025$). Estos hallazgos estadísticos demostraron que el litio ejerce una influencia sobre los niveles séricos de calcio y magnesio en los pacientes psiquiátricos.

Conclusiones

La espectrometría de absorción atómica con llama (FAAS) permitió la determinación total de calcio, litio y magnesio en las diferentes muestras de suero sanguíneo de pacientes con desórdenes psiquiátricos y controles con adecuada confiabilidad (exactitud) y reproducibilidad (precisión). Además, los métodos empleados resultaron libres de interferencias no espectrales, presentando niveles adecuados de detectabilidad, cuantificabilidad y sensibilidad analítica. La aplicabilidad de los métodos basados en la FAAS en el establecimiento de las concentraciones totales de Ca, Li y Mg en las poblaciones estudiadas evidenció el potencial analítico de éstos para ser utilizados en los laboratorios de servicio de las instituciones hospitalarias y clínicas de la región y el país.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su gratitud al Laboratorio de Instrumentación Analítica (LIA) de la Universidad del Zulia: el gran escenario académico del trabajo investigativo diario, y que este trabajo represente un obsequio al LIA en su cumpleaños N° 30: 23 de septiembre de 1983 – 23 de septiembre de 2013. También agradecen la dotación instrumental previa obtenida a través de investigaciones concluidas, co-financiadas por el

Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología (FONACIT, Caracas, Venezuela) y por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES-LUZ); y a FUNDADESARROLLO-LUZ la ampliación de la planta física del LIA.

Referencias bibliográficas

1. KIZILER A.R., AKYOLCU M.C. *Trace Elem Electroly* 24(2): 87-92. 2007.
2. SEIFERT M., MICKE O. *Trace Elem Electroly* 23(3): 146-150. 2006.
3. ERAZO R.R. *Rev Med Clin CONDES* 21(5): 684-695. 2010.
4. PICKER J. *Rev Med Clin CONDES* 18(4): 318-323. 2007.
5. RUEDI P. *Rev Med Clin CONDES* 15(4): 143-145. 2004.
6. MARTINOWICH K., SCHLOESSER R.J., MANJI H.K. *J Clin Invest.* 119(4): 726-736. 2009.
7. GRUNZE H. *Neuropsychiatrie* 21(2): 110-120. 2007.
8. ELDESOKY E.S., KUMAR V., ALORAINY M.S., HAMDI M.M., DERENDORF H. *Int J Clin Pharmacol Ther* 46: 617-626. 2008.
9. PACZOSA-BATOR B., STEPIEN M., MAJ-ZURAWSKA M., LEWENSTAM A. *Magnesium Res* 22(1): 10-20. 2009.
10. SHALBUYEVA N., BRUSTOVETSKY T., BRUSTOVETSKY N. *J Biol Chem* 282(25): 18057-18068. 2007.
11. HYO JUNG K., JAI SUNG N., YUN SOO B., BYOUNG JOO G. *Mol Pharm* 64: 228-234. 2003.
12. MILLÁN F., OCHOA M. Influencia del litio sobre los niveles séricos de calcio y magnesio en pacientes con desórdenes psiquiátricos (Para obtener el título de Licenciada en Bioanálisis). Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. Maracaibo (Venezuela). 75 pp. 2001.
13. HANS-GEORG C. *Trace Elem Electroly* 29(2): 117-118. 2012.

14. ORTIZ-LEYBA C., GÓMEZ-TELLO V., SERÓN-ARBELOA C. *Nutr Hosp* 20: 13-17. 2005.
15. SOLA-LARRAÑAGA C., NAVARRO-BLASCO I. *Food Chem* 112: 189-196. 2009.
16. LICATA P., TROMBETTA D., CRISTANI M., GIOFRÈ F., MARTINO D., CALÒ M., NACCARI F. *Environ Int* 30: 1-6. 2004.
17. SCHULPIS K.H., KARAKONSTANTAKIS T., VLACHOS G.D., GAVRILI S., MENTIS A.F.A., LAZAROPOULOU C., PAPASSOTIRIOU I. *J Clin Nut Met* 4: e176-e180. 2009.
18. BURGUERA J.L., BURGUERA M. *Spect Acta Part B* 64: 451-458. 2009.
19. VÁSQUEZ A. DEL C., FERNÁNDEZ D.R., BELLO S.C., OCANDO A.M., RODRÍGUEZ M.C., SEMPRÚN B.I., HERNÁNDEZ M., COLINA M., GRANADILLO V.A. *Ciencia (LUZ)* 14(2): 202-209. 2006.
20. CONTROSCERI G., AMAYA R., FERNÁNDEZ D., ANGULO A., VILLASMIL J., OBERTO H., SEMPRÚN B., HERNÁNDEZ M., GRANADILLO V. *REDIELUZ* 1(2): 136-141. 2011.
21. CÁMARA C., FERNÁNDEZ P, PÉREZ C., VIDAL M. *Toma y tratamiento de muestras*. Síntesis. Madrid (España). 49-51. 2004.
22. MONGAY C. *Quimiometría*. PUV Publicaciones. Colección Educació Materials 82, Universitat de València. Valencia (España). 27-30. 2005.
23. ANALYTICAL METHODS FOR ATOMIC ABSORPTION SPECTROPHOTOMETRY, Perkin-Elmer, Norwalk, USA. January Review. BC-1, BC-4. 1982
24. CASTILLO C. Efecto del litio sobre los niveles de magnesio plasmático y eritrocítico (Trabajo de ascenso). Departamento de Química, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. Maracaibo (Venezuela), 25 pp. 1983.