



Facultade de Ciencias  
UNIVERSIDADE DA CORUÑA

## **Grado en Química**

Memoria del Trabajo de Fin de Grado

***Biodisponibilidad oral de metales en materia  
particulada***

***Biodiponibilidade oral de metáis en materia  
particulada***

***Oral Bioavailability of metals in particulate  
matter***

Directores: Jorge Moreda Piñeiro  
Isabel Turnes Carou

Lucia Dans Sánchez

Curso 2016/2017- Convocatoria: Julio



## ÍNDICE

<b>1. RESUMEN.....</b>	<b>1</b>
<b>2.1. MATERIA PARTICULADA.....</b>	<b>5</b>
2.1.1. Origen y clasificación .....	5
2.1.2. Composición química.....	6
<b>2.2. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS.....</b>	<b>8</b>
<b>2.3. NORMATIVA .....</b>	<b>8</b>
<b>2.4. BIO-ACCESIBILIDAD Y BIO-DISPONIBILIDAD.....</b>	<b>9</b>
2.4.1. Aspectos generales: por qué es necesaria.....	9
2.4.2. Bio-accesibilidad y bio-disponibilidad oral e inhalatoria .....	10
2.4.3. Bio-accesibilidad y bio-disponibilidad oral de metales en materia particulada ...	11
<b>3. OBJETIVO.....</b>	<b>15</b>
<b>4. PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>17</b>
<b>4.1. INSTRUMENTACIÓN .....</b>	<b>17</b>
<b>4.2. REACTIVOS.....</b>	<b>18</b>
<b>4.3. SELECCIÓN / DESCRIPCIÓN DE MUESTRAS.....</b>	<b>19</b>
4.3.1. Muestreo.....	19
4.3.2. Puntos de muestreo .....	20
4.3.3. Muestras analizadas .....	22
<b>4.4. PROCEDIMIENTO DE EXTRACCIÓN ÁCIDA PARA LA DETERMINACIÓN DE METALES EN MATERIA PARTICULADA .....</b>	<b>23</b>
<b>4.5. PROCEDIMIENTO DE EXTRACCIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE LA FRACCIÓN METÁLICA BIO-DISPONIBLE .....</b>	<b>25</b>
4.5.1. Procedimiento de digestión ácida asistida con energía de microondas de la fracción biodisponible. ....	26
<b>4.6. DETERMINACIÓN DE METALES MEDIANTE ESPECTROMETRÍA DE MASAS CON PLASMA ACOPLADO INDUCTIVAMENTE (ICP-MS) .....</b>	<b>27</b>
4.6.1. Procedimiento.....	27
4.6.2. Rectas de calibrado y adición .....	28
4.6.3. Límites de detección y cuantificación .....	30
<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>33</b>
<b>5.1. CONTENIDO TOTAL DE METALES EN MATERIA PARTICULADA .....</b>	<b>33</b>
<b>5.2. FRACCIÓN BIO-DISPONIBLE.....</b>	<b>34</b>
<b>6. CONCLUSIONES.....</b>	<b>41</b>

**BIBLIOGRAFÍA.....43**

**ANEXO 1.....47**

# 1. RESUMEN

## Bio-disponibilidad oral de metales en materia particulada.

Se ha utilizado un modelo *in-vitro* que combina métodos de digestión gastrointestinal simulada y diálisis para la evaluación de la bio-disponibilidad oral de elementos esenciales y tóxicos, en muestras de particulado ( $PM_{10}$  y  $PM_{2.5}$ ) de varios entornos de A Coruña (entorno urbano, suburbano e industrial). Después de realizar un tratamiento de digestión ácido asistida por energía de microondas, el contenido total de metales en muestras de material particulado y dializados se analizaron por espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS). Se encontraron porcentajes elevados (superiores al 60%) de bio-disponibilidad para el Ca (en todos los entornos y en las fracciones de  $PM_{10}$  y  $PM_{2.5}$ ). El Fe y Mg presentan una menor bio-disponibilidad (porcentajes en el intervalo de 10 a 60%), mientras que Al, As, Bi, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Sb, Se, Sr, V y Zn no se consideran bio-disponibles (porcentajes inferiores al 3,0%).

# 1. RESUMO

## Bio-diponibilidade oral de metais en materia particulada.

Empleouse un modelo *in-vitro* que combina métodos simulados de dixestión gastro-intestinal e diálise para a avaliación da bio-disponibilidade oral de elementos esenciais e tóxicos en mostras de particulado atmosféricos (PM<sub>10</sub> e PM<sub>2,5</sub>) en mostras de varios entornos da Coruña (entorno urbano, suburbano e industrial). Despois de realizar un tratamento de dixestión ácida asistida por enerxía de microondas, o contido total de metais nas mostras do material particulado e nos dializados foron analizadas por espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS). Atopáronse elevados porcentaxes (superiores ao 60%) de bio-disponibilidade para o Ca (en todos os entornos e fraccións de PM<sub>10</sub> e PM<sub>2,5</sub>). O Fe e Mg teñen unha menor bio-disponibilidade (porcentaxes entre o 10 e o 60%), mentres que o resto dos metais, Al, As, Bi, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Sb, Se, Sr, V e Zn non se consideran bio-dispoñibles (porcentaxes inferiores ao 3,0%).

# 1. ABSTRACT

## Oral Bio-availability of metals in particulate matter

Oral bio-availability of essential and toxic elements has been assessed in particulate matter samples (PM<sub>10</sub> and PM<sub>2.5</sub>) from several sites of A Coruña (urban, sub-urban and industrial sites) by using an *in-vitro* model that combines simulated gastric and intestinal digestion / dialysis methods. Total metal content in particulate matter samples and dialyzable were analyzed by inductively coupled plasma – mass spectrometry (ICP–MS) after a microwave-assisted acid digestion treatment. High dialyzability percentages for Ca (in all sites and for PM<sub>10</sub> and PM<sub>2.5</sub>) were found (dialyzability percentages higher than 60%). Fe and Mg are less bio-available (dialyzability percentages in the range of 10 to 60 %), while Al, As, Bi, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Sb, Se, Sr, V and Zn are not bio-availables (dialyzability percentages lower than 3.0 %).





## **2. INTRODUCCIÓN**

### **2.1. MATERIA PARTICULADA**

El material particulado atmosférico (Particulate Matter PM) es el conjunto de materia en estado sólido que se encuentra suspendido en la atmósfera y forma parte del aerosol atmosférico, el cual engloba a todas las partículas sólidas o líquidas en suspensión en un medio gaseoso. Debido fundamentalmente a su origen, el material particulado atmosférico presenta una gran variabilidad en cuanto a sus propiedades físicas, a su composición química y al tamaño de las partículas que lo constituyen. A continuación se detalla el origen, clasificación y composición química (P. KulKardi, 2011).

#### **2.1.1. Origen y clasificación**

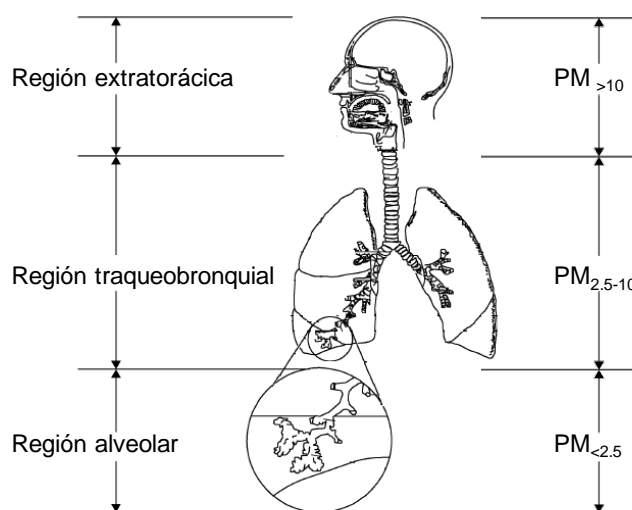
Al contrario que otros contaminantes, el material particulado presente en el aire es emitido principalmente por dos tipos de fuentes: las fuentes naturales (re-suspensión de polvo mineral, generación de aerosol marino, erupciones volcánicas) y las fuentes antropogénicas, en este término se incluyen todos los efectos, procesos o materiales que son el resultado de actividades humanas (tráfico, industria, etc.) (Pey, 2007).

Tanto las partículas de origen natural como las antropogénicas pueden ser clasificadas en partículas primarias o secundarias. (Azam Mukhtar, 2013). Las partículas primarias se emiten directamente como líquidos o sólidos a partir de fuentes naturales, como son los desiertos, los océanos y los mares. Las partículas secundarias, por otra parte, se forman a partir de gases precursores ( $H_2SO_4$ ,  $NH_3$  y Compuestos Orgánicos Volátiles (COV)) mediante la conversión de gas a partículas.

En función de la procedencia del material particulado sus propiedades físicas pueden variar (tamaño, superficie específica, densidad o número) así como su composición química. Debido a su naturaleza, son relativamente inestables, por lo que sus propiedades y concentraciones pueden ser alteradas con el tiempo. Estos cambios pueden ser resultado de procesos físicos y químicos, tales como procesos de condensación, nucleación o evaporación, dónde en todos ellos se produce una

transferencia de masa desde o hasta la partícula. Por lo tanto, la concentración, composición y distribución de tamaño de las partículas de aerosol atmosféricas son temporalmente y espacialmente muy variables (Samitier, 2013).

En cuanto a su tamaño se clasifican en  $PM_{10}$ ,  $PM_{2.5}$  y  $PM_1$  (donde el subíndice hace referencia al diámetro, expresado en  $\mu m$ ). Atendiendo a esta clasificación, las partículas son fácilmente aspirables, siendo capaces de penetrar a distintas zonas del sistema respiratorio en función de su tamaño. Pueden llegar a zonas de la laringe o a la región alveolar provocando efectos negativos sobre la salud humana. En la Figura 1 se muestran las regiones de penetración relacionandas con el tamaño de la partícula (Stephanie C. Hamel, 1998) (Limbeck, 2011).



**Figura 1: Zonas del sistema respiratorio que alcanzan las partículas según su tamaño. (U.S.E.P., 2004).**

### 2.1.2. Composición química

Atendiendo a su naturaleza, se han establecido diferentes grupos composicionales (S.N., 1998):



#### Materia mineral

La composición de las partículas que conforman este grupo depende en su mayoría de las condiciones de los suelos locales. Los constituyentes principales son el cuarzo ( $SiO_2$ ); los carbonatos como la calcita ( $CaCO_3$ ) y la dolomita ( $CaMgCO_3$ );

minerales de la arcilla como la caolinita ( $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$ ) o la illita ( $\text{K}(\text{AlMg})_3\text{SiAl}_{10}(\text{OH})$ ); cloritas ( $\text{SiO}_{10}(\text{MgFe})_5(\text{AlFe})_2(\text{OH})_8$ ); feldespatos como la albita ( $\text{NaAlSi}_3\text{O}_8$ ), la anortita ( $\text{CaAl}_2\text{Si}_2\text{O}_8$ ) y la microclina ( $(\text{KNa})\text{AlSi}_3\text{O}_8$ ); sulfatos como el yeso ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), la anhidrita ( $\text{CaSO}_4$ ) y la baritina ( $\text{BaSO}_4$ ); fosfatos como el apatito ( $\text{Ca}(\text{PO}_4)_3(\text{FCIOH})$ ); y óxidos de hierro como hematites ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ), magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) e ilmenita ( $\text{FeTiO}_3$ ). Generalmente son de origen primario, aunque algunos sulfatos y nitratos pueden generarse en la propia atmósfera como consecuencia de la reacción entre partículas carbonatadas y  $\text{SO}_2$ ,  $\text{HSO}_4^-$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

#### Aerosol marino

Son procedentes del medio marino y costero, por lo que su composición está ligada a las características del agua de mar de cada región. Principalmente están constituidas por partículas de  $\text{NaCl}$ , aunque también pueden estar presentes  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4$ ,  $\text{MgCl}_2$ , además de compuestos orgánicos.

#### Compuestos carbonosos

El componente principal de estas partículas es el carbono. Son conocidas como carbono elemental (*Elemental Carbon, EC*) o como materia orgánica (*Organic Matter, OM*). Esta clase de partículas son liberadas a la atmósfera por procesos de origen primario y secundario.

#### Partículas derivadas del azufre

Se trata de partículas de origen natural y su componente principal es el azufre. También su presencia es debida a fuentes antropogénicas, la quema de combustibles fósiles hace que se liberen grandes cantidades de esta clase de partículas a la atmósfera.

#### Partículas derivadas del nitrógeno

Este tipo de partículas son emitidas a la atmósfera por fuentes naturales (suelos, descargas eléctricas, combustión de biomasa, emisiones de microorganismos) o por fuentes antropogénicas (biomasa, agricultura y ganadería). En su composición está presente el nitrógeno.

## **2.2. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS**

Un punto a destacar de la materia particulada es el posible efecto que puede causar a la salud de los seres humanos. Desde esta perspectiva, tanto las propiedades físicas como las características biológicas y químicas (presencia, abundancia, naturaleza de hongos, moho, virus, polen y diversos alérgenos o productores de alérgenos) adquieren gran importancia cuando el polvo es transportado por el aire (fácilmente inhalable) y cuando los componentes son considerados como agentes tóxicos (Turner, 2011).

Los agentes tóxicos que pueden encontrarse incluyen metales pesados y metaloides, tales como As, Pb, Cd, Cr y Hg, plaguicidas semi-volátiles y no volátiles, aditivos plásticos, retardantes de llama y contaminantes orgánicos persistentes, como hidrocarburos aromáticos policíclicos (Azam Mukhtar, 2013).

La exposición a estos tóxicos en la PM ocurre por inhalación y por vía digestiva mediante el aclaramiento mucociliar. En última instancia, las partículas ingeridas pueden entrar en el sistema circulatorio, esto es debido a que los tóxicos son digeridos y metabolizados en el aparato digestivo al ponerse en contacto con los jugos gástricos, en mayor o menor proporción dependiendo de la especie en cuestión (Turner, 2011).

## **2.3. NORMATIVA**

Actualmente en España se establecen en el Real Decreto 995/2000, de 2 de junio, objetivos de calidad, métodos de control y métodos de medidas de referencia para determinadas sustancias contaminantes que provienen de vertidos en el medio ambiente.

En el Diario Oficial de la UE se encuentra la Directiva 2004/107/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de diciembre de 2004 la cual establece un valor objetivo de concentración de arsénico, cadmio, níquel y benzo(a)pireno en el aire ambiente a fin de evitar, prevenir o reducir los efectos perjudiciales en la salud humana y en el medio ambiente en su conjunto; en el mismo también se encuentran normativas dirigidas a la calidad medioambiental de la política del agua, sedimentos y/o biota en la Directiva 2008/105 / CE del Parlamento Europeo y de Consejo de diciembre de 2008. Y normas

relativas a la calidad del aire ambiente y a una atmósfera más limpia en Europa recogidas en la directivas 2008/50/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de mayo de 2008.

## **2.4. BIO-ACCESIBILIDAD Y BIO-DISPONIBILIDAD**

La bio-accesibilidad de una sustancia indica la mayor estimación de nivel de riesgo de la misma y se define como la concentración máxima de esa sustancia que puede ser absorbida cuando se disuelve o se pone en contacto con fluidos o jugos corporales. La biodisponibilidad se refiere a la fracción de una sustancia liberada en los fluidos o jugos corporales que es absorbida a través de membranas celulares de los alveolos pulmonares o del intestino (fracción bio-disponible), pasa al torrente sanguíneo y de ahí a los diferentes órganos del individuo expuesto, donde estará “disponible” para promover su acción tóxica (Stephanie C. Hamel, 1998).

La presente memoria se centra en la realización de un breve estudio sobre la bio-disponibilidad oral de metales en la materia particulada, en los siguientes apartados se desarrollaran las características y los principales problemas que presenta dicha temática.

### **2.4.1. Aspectos generales: por qué es necesaria**

Elementos como Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, V y Zn están ampliamente distribuidos en la materia particulada, se sabe que pueden ejercer efectos tóxicos sobre el ser humano y, por lo tanto, se sospecha que son una fuente importante de toxicidad. Por lo que el análisis de elementos traza en PM se considera de verdadero interés para evaluar la calidad del aire y los posibles riesgos para la salud (Azam Mukhtar, 2013).

La solubilidad de las sustancias condicionan la bio-accesibilidad / bio-disponibilidad de las mismas, que se ven afectadas tanto por la composición y las características de la materia particulada como por las condiciones fisiológicas de los individuos (edad, sexo, estado de salud y hábitos de vida). Sin embargo, la mayoría de los estudios que se ocupan de la determinación de metales traza en PM se centran

en la determinación de la concentración total de metales sin distinguir que fracción es capaz de entrar en el organismo (Azam Mukhtar, 2013).

Por todos estos motivos es necesario realizar una evaluación más rigurosa del riesgo de toxicidad, para obtener una estimación del peligro. Lo verdaderamente importante es la determinación de la fracción bio-disponible en vez de los contenidos totales, los cuales proporcionan una sobreestimación del potencial tóxico. De esta forma se pretende concretar y establecer niveles de riesgo reales para la salud del ser humano.

#### **2.4.2. Bio-accesibilidad y bio-disponibilidad oral e inhalatoria**

La bio-accesibilidad/ bio-disponibilidad oral se refiere a la materia particulada que llega al sistema digestivo mediante la ingestión de dicho polvo. La ingestión se produce principalmente mediante el aclaramiento mucociliar, después de la inhalación muchas partículas quedan retenidas en las regiones faríngea y traqueal y son transportadas en cuestión de horas hasta el sistema digestivo (Stephanie C. Hamel, 1998).

Por el contrario la bio-accesibilidad / bio-disponibilidad inhalatoria se refiere a la inhalación de la materia particulada durante la respiración, seguido de la deposición de estas partículas en el sistema respiratorio humano. De este modo llegan al organismo las partículas más finas ( $PM_{10}$ ), que son transportadas hasta la región alveolar donde interactúan con los fluidos pulmonares pasando al torrente sanguíneo (Gaëlle Uzu, 2011) (Azam Mukhtar, 2013).

En la práctica, la biodisponibilidad puede evaluarse realizando experimentos *in-vivo* con animales, siempre que sean anatómicos, metabólicos y fisiológicamente similares a los humanos, como pueden ser los cerdos (Drexler, 2007) (Turner, 2011). Sin embargo, los problemas éticos, el tiempo y el alto coste de estos procedimientos impiden que se lleven a cabo de forma continua.

Un medio alternativo y más rápido de evaluación es incubar muestras de interés con reactivos químicos que imitan las condiciones fisiológicas del ser humano, estos son los llamados métodos *in-vitro*. Este tipo de métodos implica el uso de condiciones (temperatura, pH, agitación, enzimas, composición química) similares a los del cuerpo

humano y miden las concentraciones máximas de sustancias tóxicas que se movilizan en fase acuosa (por disolución, desorción, intercambio iónico y complejación). De este modo se estaría determinando la fracción bio-accesible, y a partir de esta es posible la determinación de la fracción bio-disponible, haciendo pasar la fracción bio-accesible por una membrana semipermeable (simulando las paredes del intestino o los alveolos pulmonares) con un tamaño de poro específico (Ka-Hei, 2007) (Turner, 2011).

Esta clase de métodos proporcionan una aproximación adecuada a las situaciones *in-vivo* y ofrecen las ventajas de la simplicidad, bajo coste, alta precisión y buena reproducibilidad.

#### **2.4.3. Bio-accesibilidad y bio-disponibilidad oral de metales en materia particulada**

Muchos estudios se han basado en la determinación de la fracción bio-accesible inhalatoria de metales en PM. En estos estudios se proponen diferentes procedimientos de extracción y fraccionamiento para determinar la distribución de metales traza. Los principales procedimientos de extracción se basan en la agitación simple o ultrasónica empleando agua (fracción acuosa) o disoluciones que simulan las condiciones fisiológicas del ser humano, con el subsiguiente análisis mediante técnicas espectroscópicas. Tienen como principal objetivo clasificar los analitos o grupos de analitos en función de sus propiedades físicas (tamaño, solubilidad) o químicas (adhesión, reactividad). La gran variación de los resultados obtenidos en estos estudios revelaron la dificultad para realizar la validación de un método estandarizado y reconocido (Azam Mukhtar, 2013).

Los estudios realizados respecto a la fracción bio-accesible / bio-disponible oral en PM se han enfocado principalmente en obtener la mayor concentración de metales capaz de ser absorbida por el tracto digestivo (Limbeck, 2011). Con la Tabla 1, que se muestra a continuación, se pretende expresar de forma resumida los metales estudiados, los tamaños de partícula, las condiciones gastrointestinales y las técnicas de medida encontradas en la bibliografía:

**Tabla 1: Procedimientos propuestos para la determinación de la fracción bio-accesible oral de metales.**

Metal	Tamaño ( $\mu\text{m}$ )	Condiciones gastrointestinales	Fracción Bio-accesible (%)	Técnica	Bibliografía
<b>Pb As</b>	<250	Pepsina citrato malato, ácido láctico, HCl, ácido acético, 37°C, 1h, pH 1. Sales biliares, pancreatina, 37°C, 3h pH 7	— <sup>a</sup>	ICP	(Michael V. Ruby, 1996)
<b>Pb</b>	<53	Pepsina y pancreatina, sales biliares, pH 1,3	— <sup>a</sup>	FAAS	(D. P. Oliver, 1999)
<b>Al Cd Fe Cu Mn Ni Pb Sn Zn</b>	— <sup>a</sup>	Pepsina y proteasa	— <sup>a</sup>	ICP-MS	(Andrew Turner L. S., 2006)
<b>Pb</b>	<250	Glicina ASTM Tipo II, HCl, 37°C, 1h, pH 1,5	— <sup>a</sup>	ICP-MS	(Drexler, 2007)
<b>Pt Pd Rh</b>	74-90	Pepsina, citrato sódico, ácido málico ácido láctico, HCl, 37°C 1h. Sales biliares, pancreatina	— <sup>a</sup>	ICP-MS	(Claudia Colombo, 2008)
<b>Pb</b>	<250	Glicina ASTM Tipo II, HCl, 37°C, 1h, pH 1,5	— <sup>a</sup>	ICP-MS	(Drexler, 2007)
<b>Pt Pd Rh</b>	74-90	Pepsina, citrato sódico, ácido málico ácido láctico, HCl, 37°C, 1h. Sales biliares, pancreatina	— <sup>a</sup>	ICP-MS	(Claudia Colombo, 2008)
<b>Rh Pd Pt Pb</b>	<63	Pepsina, citrato sódico, malato sódico, ácido acético, 37°C, 1h, pH 2,5. Pancreatina, sales biliares, 37°C, 2-4h, pH 7	0,61-6,84	ICP-OES	(Price, 2008)
<b>Ag Cd Co Cr Cu Mn Mo Ni Pb Sb Sn Ti Ti Zn</b>	2,5 y 10	Pepsina , 37°C, 2h	— <sup>a</sup>	ICP-MS ICP-OES	(Thomas Falta, 2008)
<b>Al As Ba Ca Cr Cs Cu Fe Mg Mn Mo Ni P S Si Sr Ti V Zn Ag Cd Co Hg Sb Sn Ti Pb</b>	63	Pepsina, citrato sódico, malato de sodio, ácido láctico, ácido acético, 37°C, 1h, pH 2,5	— <sup>a</sup>	ICP-OES ICP-MS	(Andrew Turner B. H., 2010)
<b>Pb</b>	1-2,5-10	Saliva artificial (pH 6,5) solución gástrica (pH 1,0) HCl	31,4-61,2	ICP-OES	(Gaëlle Uzu, 2011)
<b>Ba Co Cu Mn Ni Pb</b>	10	Jugos gástricos sintéticos 37°C 1h	32-97	ICP-ES ICP-MS	(Limbeck, 2011)
<b>Pd, Pt</b>	2,5 y 10	Pepsina jugos gástricos sintéticos HCl, 37°C, 2h, pH 2	4,9-77,2	ICP-MS	(Christoph Puls, 2012)
<b>Cd Co Cr Cu Ni Pb Zn Mn As</b>	2,5	Glicina, HCl, 37°C, 1h ,pH 1,5	8,6-71,5	ICP-OES	(Xin Hu, 2012)
<b>As Cd Cr Mn Ni Pb Zn</b>	<63	Pancreatina, 37°C, pH7	19-63	ICP-OES	(Jirina Sysalová, 2014)
<b>Zn Pb</b>	2,5	Jugos gástricos sintéticos, 37°C, pH1,5	1,2-20,6	ICP-MS	(C. Patinha, 2015)



**Tabla 1: Continuación Procedimientos propuestos para la determinación de la fracción bioaccesible oral de metales.**

<b>Metal</b>	<b>Tamaño (μm)</b>	<b>Condiciones gastrointestinales</b>	<b>Fracción Bio-accesible (%)</b>	<b>Técnica</b>	<b>Bibliografía</b>
<b>Cr Mn Ni Cu Zn As Cd Sn Sb Hg Pb</b>	2,5	Solución gástrica sintética 37°C 1h Sales biliares pancreatina 37°C 2-4h pH 7	— <sup>a</sup>	ICP-MS	(Minjuan Huang W. W., 2014)
<b>As y sus especies</b>	2,5	Solución gástrica 37°C 1h pH2 / Sales biliares, pancreatina 37°C 4h pH7	2,42-28,49	ICP-MS HPLC	(Minjuan Huang X. C., 2014)
<b>As Cd Pb Cr Cu Fe Mn Ni Zn</b>	2,5 y 10	Glicina 37°C 1h pH1,5	— <sup>a</sup>	ICP-MS	(Jawad Ali Hussein Alpofead, 2016)

—<sup>a</sup>: Dato no disponible.

ICP-MS: Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente.

ICP-OES: Espectrometría de Emisión Óptica con Plasma Acoplado Inductivamente.

HPLC: Cromatografía Líquida de alta Resolución.

FAAS: Espectrometría de Absorción Atómica con Atomización en llama.

Como se puede observar en la tabla anterior, hay una gran variabilidad en las condiciones gastrointestinales utilizadas, esto es debido a que no existe un protocolo estandarizado y aceptado por la comunidad científica. Además, no se han encontrado publicaciones relacionadas con las fracciones bio-disponibles en PM, si no que toda la bibliografía mencionada se centra en la fracción bio-accesible. Por este motivo, el principal objetivo de esta memoria es dar a conocer por primera vez resultados de la fracción metálica oral bio-disponible en PM.



### 3. OBJETIVO

La relación entre la calidad del aire y la salud humana es un tema de actualidad. El conocimiento de las concentraciones totales de contaminantes proporciona en muchas ocasiones una sobreestimación de potencial tóxico de las mismas. Para una mejor evaluación del riesgo para la salud se hace necesario determinar las concentraciones bio-accesibles / bio-disponibles de las sustancias nocivas presentes en lugar de su contenido total. Es decir, estimar la fracción del contaminante que realmente será absorbido por el organismo humano.

El objetivo principal de este Trabajo Fin de Grado es estudiar la bio-disponibilidad oral *in-vitro* (mediante la medida de la fracción dializable, utilizando membranas semipermeables con un tamaño de poro especificado) de metales en materia particulada atmosférica.

Se realizará una primera aproximación para conocer la fracción de metales bio-disponible en  $PM_{10}$  y  $PM_{2.5}$  muestreados en diferentes entornos de la ciudad de A Coruña (entorno urbano, suburbano e industrial).



## 4. PARTE EXPERIMENTAL

### 4.1. INSTRUMENTACIÓN

- Balanza electrónica AND modelo ER-180A, de precisión  $\pm 0,0001$  g (Thebarton SA, Australia)
- Balanza granataria GRAM modelo SV-510ix, de precisión  $\pm 0,001$  g (Barcelona, España)
- ICP-MS Thermo Finnigan X series 2 (Waltham, MA, EEUU)
- Muestreador de gran volumen Digitel DH-80 (Digitel Electronik AG, Hegnau, Suiza)
- Captador  $PM_{10}$ : Graseby–Andersen Gibsonville (TISCH Enviromental Inc. Cleves, Ohio, EEUU)
- Captador  $PM_{2,5}$ : IND modle MVS 6D Y Digitel modelo DHA-80 (TISCH Enviromental Inc.)
- Micropipetas Eppendorf de volumen fijo y variable (Hamburgo, Alemania)
- Microondas: Ethos Plus microwave lab-station (Milestone, Sorisole, Italia), con recipientes de Teflón de 100 ml.
- Incubadora: Incubador Boxcult incubator y agitador Rotabit orbital-rocking platform shaker (J.P. Selecta, Barcelona, España).

### Material fungible

- Material volumétrico de vidrio (clase A)
- Embudos de plástico y vidrio
- Espátulas de plástico
- Pinzas de plástico
- Membranas diálisis: Cellu Sep<sup>®</sup> H1 high grade regenerated cellulose tubular membranes (molecular weight cutoff 10 kDa, 50 cm x 25.5 mm), Membrane Filtration Products Inc (Seguin, TX, EEUU)
- Botes de plástico de 25 ml para conservar dializados.
- Sacabocados: Sacabocados de acero (Selecta, Barcelona, España)

- Filtros de fibra de cuarzo: PM<sub>2,5</sub>: QF20 quartz fiber filters (15 cm diameter), y PM<sub>10</sub> QF20 quartz fiber filters (27 cm×15 cm), Schleicher&Schuell, D-Dassel, Germany.

Todo el material de vidrio y plástico necesario para manipular las muestras o los reactivos debía estar previamente sumergido en un baño de HNO<sub>3</sub> al 10% durante 48 horas, de esta forma se consigue la eliminación de la contaminación metálica. Antes de su uso era aclarado con abundante agua Milli-Q.

#### 4.2. REACTIVOS

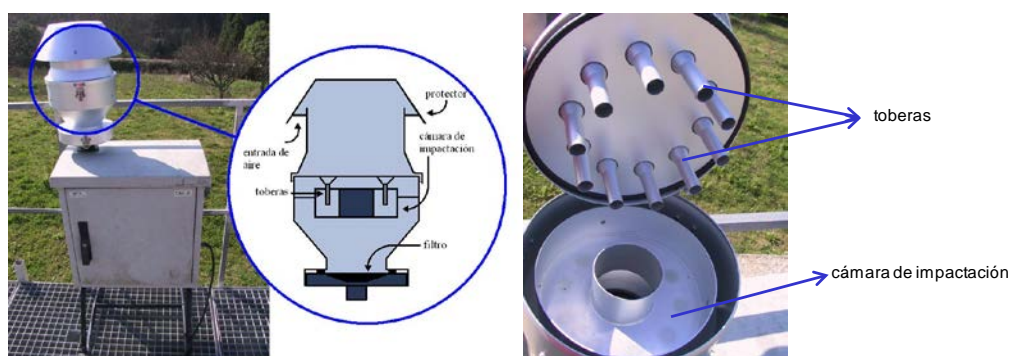
- Agua Milli-Q con resistencia superior a 18 MΩcm<sup>-1</sup> obtenida mediante el dispositivo Milli-Q purification, Millipore Co (Bedford, MA, EEUU)
- Preparación de disoluciones patrón multi-elementales a partir de disoluciones madre de 1000 mg/L de Cr, Ni, Cu, Zn, As, Sb, Sr, Cd, Se, Pb, Bi, Al, Fe; y 10000 mg/L de Ca, Na y Mg Panreac (Barcelona, España)
- Patrón interno multi-elemental con Ge, In, Rh, Y de 10 ± 2 mg/L y Sc de 50 ± 2 mg/L (Panreac)
- HNO<sub>3</sub> concentrado, 69-70%, HF, HClO<sub>4</sub>, HCl (J.T.Baker Phillipsburg, PA, EEUU)
- NaHCO<sub>3</sub> (Merck, Poole, U.K.)
- Enzimas: Pepsina, Pancreatina (Sigma Aldrich, St Louis, MO, EEUU)
- Sales biliares (Sigma Aldrich)
- PIPES, sal di-sódica del ácido piperazinoetanosulfónico, Sigma Aldrich

### 4.3. SELECCIÓN / DESCRIPCIÓN DE MUESTRAS

#### 4.3.1. Muestreo

La técnica más empleada para el muestreo de PM con objeto de una posterior determinación de su composición química y/o la determinación másica, es la filtración de un cierto volumen de aire y la pesada o análisis de las partículas retenidas en un filtro (McMurry, 2000).

El mecanismo de los equipos de filtración discontinuos utilizados en esta memoria se basa en que las partículas queden retenidas en el filtro en función de su tamaño y del flujo de aspiración, bien por impactación, sedimentación, difusión o atracción electrostática (Finlayson-Pitts, 2000). Los equipos se clasifican en función del volumen de aspiración, teniendo caudales de 30 y 2,3 m<sup>3</sup>/h y constan de una bomba de aspiración, un sensor para la medida del caudal, un registrador analógico o digital para el seguimiento del tiempo de muestreo y del caudal y un cabezal de corte selectivo. En la Figura 2 se muestra uno de los captadores utilizados para el muestreo de PM<sub>10</sub>.



**Figura 2: Captador de alto volumen MCV, esquema y detalle del cabezal de corte de PM<sub>10</sub>.**

Los filtros consisten en un material fibroso compactado que se escoge según sus propiedades de estabilidad mecánica, térmica o química, eficacia de muestreo, etc. Existen gran variedad de materiales pero los utilizados en este caso son de fibra de cuarzo de dimensiones adecuadas a cada uno de los equipos utilizados. El empleo de este tipo de filtros es debido a que la norma europea UNE-EN 12341 (UNE-EN12341:1999) especifica el empleo de filtros de fibra de cuarzo a fin de

minimizar los artefactos en el filtro, y con una eficiencia de separación superior al 99,5 %.

Previamente al muestreo los filtros han sido revisados respecto a la presencia de material de fibra suelto o defectos y posteriormente acondicionados mediante calcinación a 400 °C durante 12 horas para eliminar la posible materia orgánica. Durante el transporte se han mantenido en el interior de placas Petri o envueltos en papel de aluminio en el interior de sobres de papel y una vez pesados se han mantenido a -18 °C.

La determinación de la masa de partículas se ha realizado por un método gravimétrico siguiendo la legislación española que hace referencia a la norma UNE-EN 12341 (UNE-EN12341:1999) de 1998 y a la norma UNE-EN 14907 (UNE-EN14907) de 2006, que consiste en la pesada del filtro antes y después del muestreo. Antes de la pesada es necesario equilibrar los filtros (permanecen en una sala con aire acondicionado y deshumidificador durante 48 horas a humedad relativa 50 % ( $\pm 5$ ) y temperatura de 20 °C ( $\pm 1$ )) debido a la humedad relativa que pueden absorber del ambiente, produciendo variaciones en el peso. Esta etapa de estabilización puede producir ciertas pérdidas de especies semi-volátiles.

#### 4.3.2. Puntos de muestreo

Las muestras han sido obtenidas en tres localizaciones en el entorno de A Coruña (Figura 3) correspondientes a ambientes industrial, urbano y suburbano (Heras, 2009):

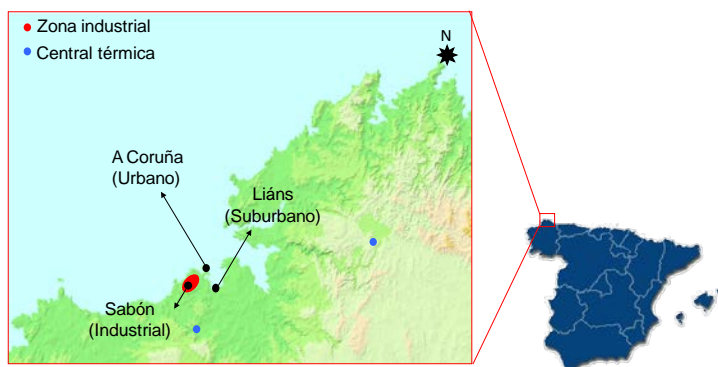


Figura 3: Localización de los tres puntos de muestreo seleccionados en A Coruña y su entorno.



### Entorno industrial

Este punto de muestreo se sitúa en el polígono industrial de Sabón (Arteixo, A Coruña) en las instalaciones de Ferroatlántica S.L: a 62 m de altura y próximo a un núcleo urbano. En los alrededores del punto de muestreo se encuentran instalaciones tales como una refinería, una central térmica, una planta de producción de alúmina y una fábrica de electrodos de grafito (Figura 4).

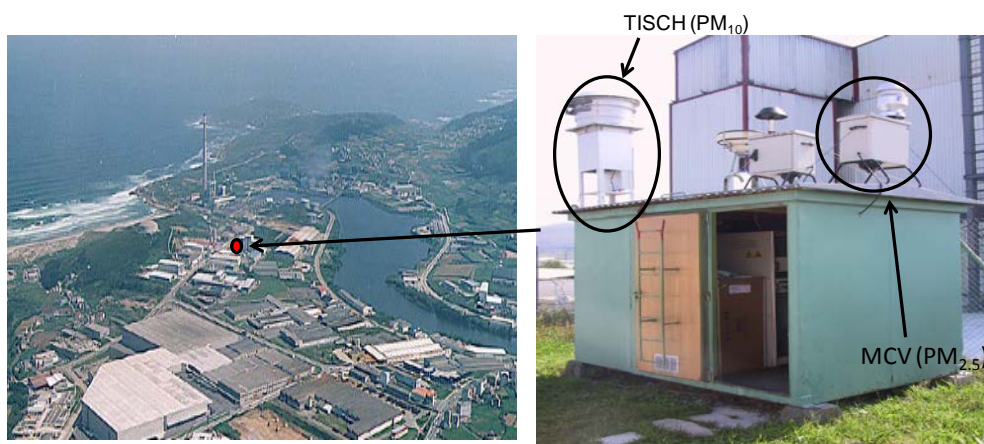


Figura 4: Estación de muestreo en entorno industrial en el polígono de Sabón.

### Entorno urbano

El muestreador en este punto está en el interior de las instalaciones de la Delegación de la Consellería de Sanidade (Xunta de Galicia), situado a 5 metros de altura. Se trata de una zona influenciada en gran medida por el tráfico (Figura 5).

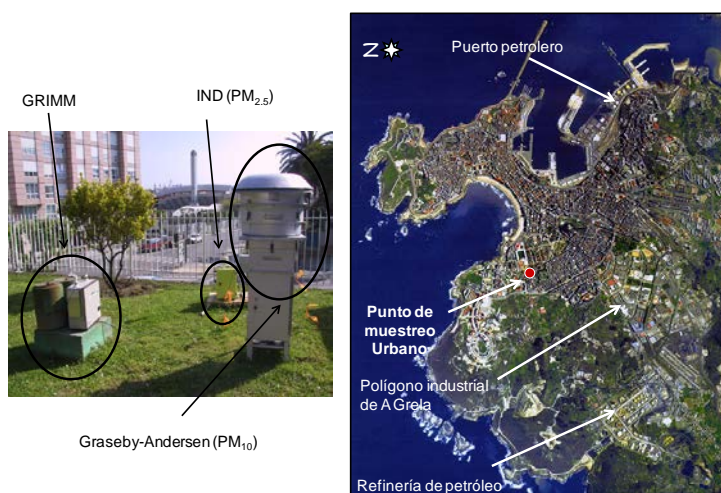
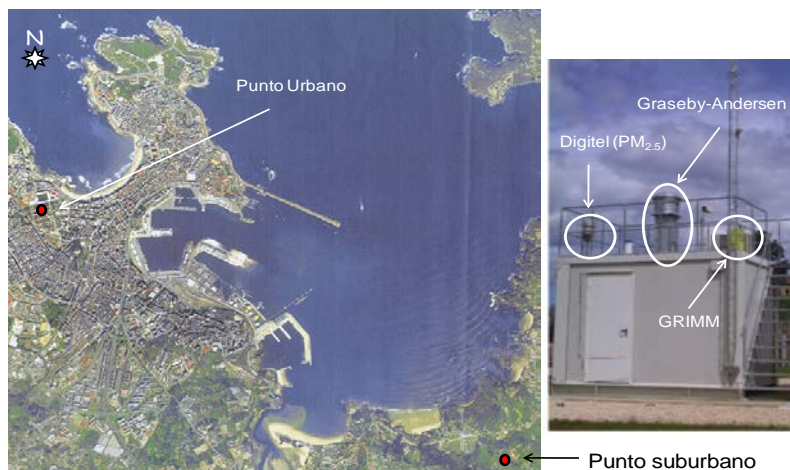


Figura 5: Estación de muestreo en entorno urbano de la ciudad de A Coruña.

### Ambiente suburbano

Este punto se encuentra en las instalaciones del Instituto Universitario de Medio Ambiente de la Universidad de A Coruña en Liáns (Oleiros) a 45 m de altura sobre el nivel del mar.



**Figura 6: Instalaciones de muestreo del Instituto de Medio Ambiente de la UDC en entorno suburbano.**

### 4.3.3. Muestras analizadas

Las muestras seleccionadas para este estudio pertenecen a un proyecto de investigación realizado por el Grupo QANAP durante los años 2004 y 2005, en el cual se realizó la toma de muestra del particulado atmosférico en tres entornos de la ciudad de la A Coruña detallados en el apartado anterior.

La Tabla 2 que se muestra a continuación recoge los días de muestreo seleccionados para realizar este estudio.

**Tabla 2: Muestras seleccionadas.**

Ambiente urbano (Sanidad)	Ambiente suburbano (I.U.M.A.)		Ambiente industrial (Sabón)	
PM <sub>10</sub>	PM <sub>10</sub>	PM <sub>2,5</sub>	PM <sub>10</sub>	PM <sub>2,5</sub>
08/06/04	17/06/04	17/06/04	17/06/04	17/06/04
10/07/04	19/07/04	19/07/04	19/07/04	19/07/04
28/08/04	07/10/04	07/10/04	05/09/04	05/09/04
29/09/04	05/09/04	05/09/04	27/09/04	27/09/04
30/10/04	08/11/04	08/11/04	07/10/04	07/10/04
23/11/04	02/12/04	03/01/05	08/11/04	08/11/04
25/12/04	03/01/05		02/12/04	02/12/04
			03/01/05	03/01/05

#### **4.4. PROCEDIMIENTO DE EXTRACCIÓN ÁCIDA PARA LA DETERMINACIÓN DE METALES EN MATERIA PARTICULADA**

Mediante el empleo de la digestión ácida es posible obtener la concentración total de metales en las muestras de filtro de PM. Es necesario obtener esta concentración ya que sin ella no se podría expresar en forma de porcentaje la concentración de metales que pasa al organismo, es decir, la fracción bio-disponible.

El procedimiento de extracción ácida para determinación del contenido total de metales en las muestras de PM no fue llevado a cabo durante la realización de este trabajo. Las concentraciones metálicas totales fueron recopiladas de un proyecto de investigación desarrollado por el Grupo QANAP durante los años 2004 y 2005.

Sin embargo, se considera de interés detallar este procedimiento, que consiste en la digestión de ocho porciones circulares (área total extraída: 20,36 cm<sup>2</sup>) de cada filtro de PM<sub>10-2,5</sub> de los días seleccionados. Las porciones son transferidas a una bomba de politetrafluoroetileno (PTFE), se adicionan de 2,5 ml de HNO<sub>3</sub>, 5 ml de HF y se calienta a 90°C durante 12 h. La mezcla se lleva a sequedad después de la adición de 2,5 ml de HClO<sub>4</sub> y 1 ml de HNO<sub>3</sub>. Una vez que se alcanza la sequedad total, se añadieron 2,5 ml de HNO<sub>3</sub> y se enrasó a 25 ml (M. Piñeiro Iglesias, 2003).

Se prepararon blancos de procedimiento transfiriendo las mismas porciones circulares de filtros de cuarzo sin muestrear a bombas de PTFE, y se aplicó el mismo procedimiento de extracción. Se realizaron dos blancos diferentes para cada lote de extracciones. Todos los extractos ácidos se conservaron a 4 °C en un refrigerador hasta el análisis de metales traza por ICP-MS.

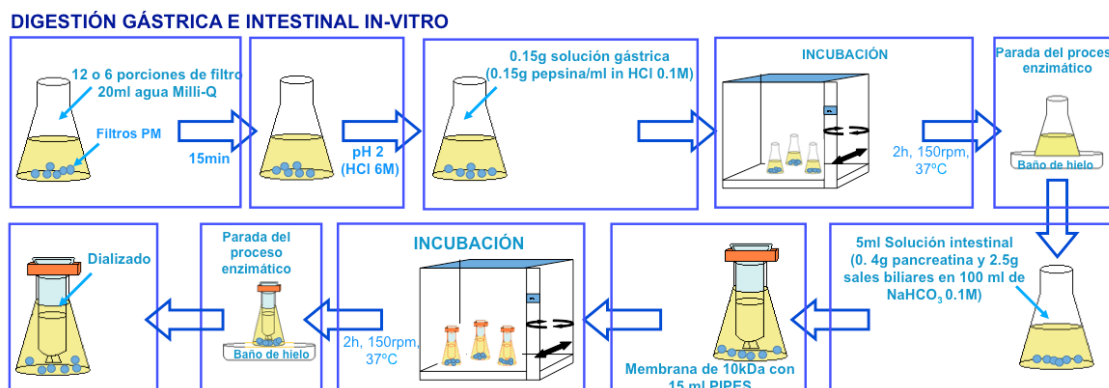


#### 4.5. PROCEDIMIENTO DE EXTRACCIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE LA FRACCION METÁLICA BIO-DISPONIBLE

Mediante la aplicación de este procedimiento y la posterior determinación por ICP-MS es posible obtener la concentración máxima de metales que puede pasar al organismo, gracias a la simulación del proceso de absorción del intestino por una membrana semipermeable con un tamaño de poro de 10 KDa. La metodología aplicada es basada en el método descrito por J. Luten y Romarís Hortas (J. Luten, 1996) (V. Romarís-Hortas, 2010).

Debido a la complejidad en la disolución aceptora (PIPES) utilizada en el proceso de diálisis, es necesario un tratamiento de digestión asistido por microondas previa a la determinación mediante ICP-MS. De esta manera se evita la obturación del nebulizador y los conos del ICP-MS.

A continuación se detallan las distintas etapas del procedimiento, en la Figura 7 se recogen dichas etapas de forma esquemática:



**Figura 7: Diagrama de flujo de las etapas de digestión gástrica e intestinal *in-vitro*.**

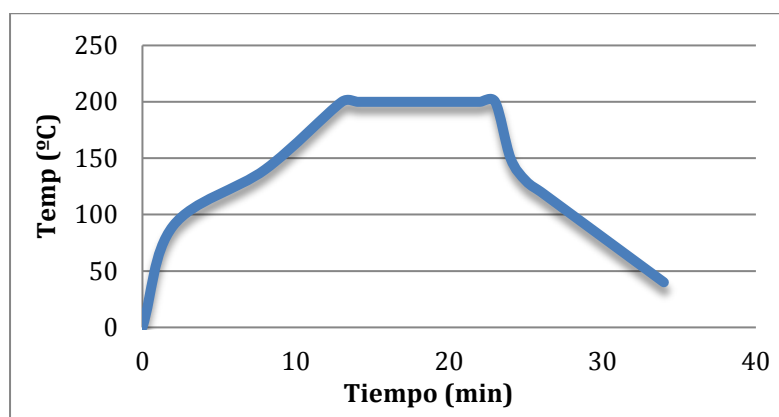
- Se toman doce porciones circulares de filtro para PM<sub>10</sub> y seis porciones para PM<sub>2,5</sub> y se introducen en frascos de vidrio con rosca de 100 mL.
- Se adicionan 20 mL de agua Milli-Q, después de reposar durante 15 minutos para que los filtros se hidraten por completo el pH se ajusta a 2 con HCl 6M.
- Se adicionan 0,15 g de pepsina (aproximadamente 140  $\mu$ L) recién preparada (0,3 g de pepsina en 5 mL de HCl 6 M). Los frascos son tapados con fibra de

teflón e incubados a 37 °C con agitación constante a 150 rpm durante 120min (digestión gástrica).

- Pasado ese tiempo, los frascos son introducidos en un recipiente con hielo para detener la acción enzimática. Se dejan atemperar a temperatura ambiente.
- Se adicionan 5 mL de la solución intestinal recién preparada (4 g de pancreatina, 2,5 g de sales biliares en 100 mL de NaHCO<sub>3</sub> 0,1M).
- En este punto se introducen las membranas de diálisis, previamente lavadas y acondicionadas con agua Milli-Q. Una vez introducidas en el frasco se le añaden cuidadosamente 15 mL de PIPES (disolución aceptora). Se cierran las membranas con unas pinzas de plástico.
- Los frascos se incuban a 37 °C con agitación constante a 150 rpm durante 120 minutos (digestión intestinal). Después de ese tiempo son introducidos en un recipiente con hielo para detener la acción enzimática y se dejan atemperar a temperatura ambiente.
- Las membranas son retiradas del frasco y se vierte el contenido del interior (dializado) en un recipiente de plástico. Este contenido se corresponde con la fracción bio-disponible y es conservada en congelador hasta su posterior digestión y medida.
- Se realizaron blancos de procedimiento con la misma cantidad de filtros para cada PM, se efectuó un blanco para cada tipo de PM.

#### **4.5.1. Procedimiento de digestión ácida asistida con energía de microondas de la fracción biodisponible.**

Antes de poder llevar a cabo el proceso de digestión, es necesario realizar un acondicionamiento de los reactores del horno microondas. Para ello se introducen en cada uno de los reactores 1 mL de ácido nítrico ultra-puro, 1 mL de peróxido de hidrogeno y 5 mL de agua Milli-Q, los reactores son sometidos al mismo programa de temperaturas que los dializados, que se resume en la siguiente gráfica:



**Figura 8 Gráfica del programa de temperaturas.**

Después de ser acondicionados son lavados con abundante agua Milli-Q. Para la digestión de los dializados se introducen en los reactores 6 mL de muestra de dializado y la misma cantidad de reactivos que para el acondicionamiento y se someten al programa de la figura 3. Una vez finalizado el programa y dejado enfriar los reactores a temperatura ambiente, los digeridos son llevados a un volumen final de 10 mL y son conservados en congelador hasta su análisis por ICP-MS.

#### **4.6. DETERMINACIÓN DE METALES MEDIANTE ESPECTROMETRÍA DE MASAS CON PLASMA ACOPLADO INDUCTIVAMENTE (ICP-MS)**

La espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción se utiliza para la determinación de metales en las fracciones bio-disponible. El motivo de la utilización de esta técnica es que presenta grandes ventajas como son bajos límites de detección para la mayoría de los elementos, alto grado de selectividad, rapidez de análisis, así como buenas exactitudes y precisiones.

##### **4.6.1. Procedimiento**

Antes de comenzar la determinación es necesario realizar una comprobación y un ajuste de la intensidad de la señal de una disolución patrón para la medida de metales con masas bajas, medias y altas. También es necesario ajustar los porcentajes de los posibles interferentes.

El número de cuentas de cada metal y el porcentaje máximo de interferentes están indicados por el fabricante, de modo que si no se alcanzan los valores establecidos, se deben modificar las condiciones de trabajo hasta lograr dichos valores. En la Tabla 3 se muestran las condiciones de trabajo para la determinación de metales.

**Tabla 3: Condiciones ICP-MS.**

<b>GENERAL</b>	
Potencia de radiofrecuencia (W)	1380
Velocidad de la bomba peristáltica (rpm)	0,45
Tiempo de estabilización (s)	35
Número de réplicas	4
Tipo de nebulizador	Micromist
<b>FLUJO DE GAS (Ar)</b>	
Plasma (L/min)	17
Gas auxiliar (L/min)	1,65
Flujo tangencial (L/min)	0,27
Nebulizador (L/min)	0,98
<b>ALINEAMIENTO DE LA ANTORCHA</b>	
Distancia del inyector del aerosol a la antorcha(mm)	7
<b>ELEMENTOS/MASA</b>	
Mg/24, Al/27, Ca/44, V/51, Cr/52, Fe/56, Fe/57, Ni/60, Cu/63, Zn/64, Cu/65, Zn/66, As/75, Se/76, Se/82, Rb/85, Sr/88, Cd/111, Sb/121, Pb/208, Bi/209	
<b>PATRÓN INTERNO</b>	Sc/45, Ge/72, Y/89, Rh/103, In/115

#### 4.6.2. Rectas de calibrado y adición

Para la cuantificación de los metales, se realizó un calibrado acuoso y un calibrado de adiciones estándar. Los rangos de calibración van desde 0 a 4.000  $\mu\text{g/L}$  ( $n=11$ ) para los metales Al, As, Bi, Cd, Cr, Cu, Pb, Sb, Se, Sr, V, y desde 0 a 40.000  $\mu\text{g/L}$  ( $n=11$ ) para los metales Ca, Fe, Mg, Ni, y Zn.

La cuantificación se realizó utilizando un patrón interno para cada conjunto de metales. Para los metales Al, Ca, Cr, Cu, Fe, Mg, Ni y V se empleó como parón interno el Sc, para lo metales As, Se, Sr y Zn se empleó el Y como patrón interno, y para los metales Bi, Cd, Pb y Sb se utilizó el In.

En la Tabla 4 se muestran las rectas de calibrado utilizadas para la determinación de los distintos metales:



Tabla 4: Rectas Calibrado.

Metal	a [Metal] + b R <sup>2</sup>	Metal	a [Metal] + b R <sup>2</sup>
<b>Al</b>	1,73E-05[Al] + 5,24E-04 R <sup>2</sup> = 0,9996	<b>Mg</b>	3,89E-04[Mg] + 1,11E-02 R <sup>2</sup> = 0,9994
<b>As</b>	2,99E-04[As] + 1,36E-02 R <sup>2</sup> = 0,999	<b>Ni</b>	1,50E-03[Ni] + 7,51E-02 R <sup>2</sup> = 0,9991
<b>Bi</b>	6,05E-03[Bi] - 1,57E-01 R <sup>2</sup> = 0,9997	<b>Pb</b>	4,56E-03[Pb] - 9,13E-02 R <sup>2</sup> = 0,9996
<b>Ca</b>	6E-05[Ca] + 0,0046 R <sup>2</sup> = 0,9995	<b>Sb</b>	1,67E-03[Sb] - 4,47E-02 R <sup>2</sup> = 0,9995
<b>Cd</b>	4,73E-04[Cd] + 2,79E-02 R <sup>2</sup> = 0,9996	<b>Se</b>	2E-05[Se] + 0,0025 R <sup>2</sup> = 0,997
<b>Cr</b>	0,0202[Cr] - 0,094 R <sup>2</sup> = 0,9997	<b>Sr</b>	3,87E-03[Sr] + 2,69E-02 R <sup>2</sup> = 0,9995
<b>Cu</b>	2,30E-03[Cu] + 1,35E-01 R <sup>2</sup> = 0,9993	<b>V</b>	2,05E-02[V] + 1,84E-01 R <sup>2</sup> = 0,9996
<b>Fe</b>	9E-05[Fe] + 0,0032 R <sup>2</sup> = 0,9995	<b>Zn</b>	4,20E-03[Zn] + 5,36E-01 R <sup>2</sup> = 0,9998

En la Tabla 5 se muestran las rectas de adición sobre la fracción bio-disponible:

Tabla 5: Rectas Adición.

Metal	a [Metal] + b R <sup>2</sup>	Metal	a [Metal] + b R <sup>2</sup>
<b>Al</b>	2E-05[Al] + 0,0144 R <sup>2</sup> = 0,9956	<b>Mg</b>	3,67E-04[Mg] + 3,35E-01 R <sup>2</sup> = 0,9999
<b>As</b>	2,17E-04[As] + 1,31E-02 R <sup>2</sup> = 0,9995	<b>Ni</b>	1,31E-03[Ni] + 1,01E-01 R <sup>2</sup> = 0,9999
<b>Bi</b>	5,66E-03[Bi] - 5,02E-01 R <sup>2</sup> = 0,9996	<b>Pb</b>	4,63E-03[Pb] + 5,17E-01 R <sup>2</sup> = 0,9999
<b>Ca</b>	6E-05[Ca] + 0,1625 R <sup>2</sup> = 0,9999	<b>Sb</b>	1,45E-03[Sb] - 8,05E-02 R <sup>2</sup> = 0,9999
<b>Cd</b>	3,72E-04[Cd] + 2,22E-02 R <sup>2</sup> = 0,9999	<b>Se</b>	1E-05[Se] + 0,0006 R <sup>2</sup> = 0,9999
<b>Cr</b>	0,0033[Cr] - 0,03 R <sup>2</sup> = 0,9999	<b>Sr</b>	3,77E-03[Sr] + 8,06E-02 R <sup>2</sup> = 0,9999
<b>Cu</b>	1,95E-03[Cu] + 2,52E-01 R <sup>2</sup> = 0,9999	<b>V</b>	3,77E-03[Sr] + 8,06E-02 R <sup>2</sup> = 0,9996
<b>Fe</b>	9E-05[Fe] + 0,039 R <sup>2</sup> = 0,9999	<b>Zn</b>	0,0202[V] - 0,094 R <sup>2</sup> = 0,9999

Se comprueba si existe efecto matriz mediante la aplicación de los correspondientes test estadísticos para la comparación de pendientes. Para todos los metales no se observó efecto matriz, por lo que todas las concentraciones fueron calculadas mediante las rectas de calibrado.

#### 4.6.3. Límites de detección y cuantificación

El límite de detección (LOD) se define como la mínima concentración o masa de muestra que genera una señal que no puede ser confundida con un blanco (al 99% de confianza). Se determina mediante la aplicación de la siguiente ecuación:

$$LOD = \frac{BP+3SD}{b} \times FD \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde *BP* es la señal del blanco de procedimiento; *SD* es la desviación estándar; *b* es la pendiente de la recta de calibrado y *FD* es el factor de dilución.

El límite de cuantificación (LOQ) se define como la mínima concentración de analito que genera una señal que se puede cuantificar de forma fiable (al 99% de confianza). Su ecuación es la siguiente:

$$LOQ = \frac{BP+10SD}{b} \times FD \quad \text{Ecuación 2}$$

Con ambas definiciones se calculan los límites de procedimiento, aplicando al resultado los factores de dilución se obtienen los límites del método.

En la tabla 6 se muestran los resultados obtenidos para los límites de detección y de cuantificación para todos los metales medidos. Ambos límites se corresponde con los límites de método ya que están expresados en µg/m³.

Tabla 6: LOD y LOQ expresados en ng/m<sup>3</sup> F.Bio.: Fracción biodisponible

LOD y LOQ expresados en ng/m <sup>3</sup>				
Metal	F.Bio. PM <sub>2,5</sub>		F.Bio. PM <sub>10</sub>	
	LOD	LOQ	LOD	LOQ
Al	0,16	0,28	0,12	0,27
As	0,04	0,054	0,033	0,056
Bi	0,002	0,005	0,001	0,001
Ca	3,0	6,8	1,6	3,4
Cd	0,001	0,002	0,001	0,001
Cr	0,003	0,006	0,002	0,005
Cu	0,11	0,20	0,22	0,58
Fe	0,53	0,84	0,58	1,3
Mg	0,71	1,1	0,47	0,79
Ni	0,020	0,030	0,072	0,19
Pb	0,004	0,008	0,005	0,012
Sb	0,003	0,007	0,011	0,034
Se	0,086	0,15	0,059	0,14
Sr	0,029	0,058	0,013	0,021
V	3E-04	7E-04	1E-04	2E-04
Zn	0,042	0,044	0,065	0,13

En vista de los resultados, tanto para los límites de detección como de cuantificación, se concluye que son adecuados para la determinación de metales en los extractos resultantes de la digestión gastro-intestinal.



## 5. RESULTADOS

### 5.1. CONTENIDO TOTAL DE METALES EN MATERIA PARTICULADA

Las concentraciones de metales totales en las muestras de particulado de los diferentes entornos, expresadas en  $\text{ng/m}^3$ , están recogidas en el Anexo 1. Tales resultados fueron tomados del proyecto de investigación desarrollado por el Grupo QANAP durante los años 2004 y 2005. Fue necesaria la recopilación de estos datos para poder expresar en forma de porcentaje la fracción bio-disponible.

Atendiendo a los resultados recogidos en el mencionado anexo, a continuación se detallan los rangos de concentraciones de los metales mayoritarios: Cr [920-9.929  $\text{ng/m}^3$ ], Cu [8.123-9.8119  $\text{ng/m}^3$ ], Ni [693-14.182  $\text{ng/m}^3$ ], Pb [929-30.196  $\text{ng/m}^3$ ], Sb [220-12.755  $\text{ng/m}^3$ ], Sr [125-7.730  $\text{ng/m}^3$ ], V [300-23.960  $\text{ng/m}^3$ ] y Zn [9.727-97.990  $\text{ng/m}^3$ ]. Dado que estos metales muestran unas concentraciones tan elevadas, es posible que su cuantificación en la fracción bio-disponible sea factible siempre y cuando sean bio-disponibles. En cuanto a los demás metales, poseen concentraciones más bajas, sus rangos son los siguientes: Al [40,7-1243  $\text{ng/m}^3$ ], As [145-2.362  $\text{ng/m}^3$ ], Bi [18,0-740  $\text{ng/m}^3$ ], Ca [130-1.624  $\text{ng/m}^3$ ], Cd [37,7-555  $\text{ng/m}^3$ ], Fe [33,4-3310  $\text{ng/m}^3$ ], Mg [28,7-1193  $\text{ng/m}^3$ ] y Se [131-1740  $\text{ng/m}^3$ ]. Debido a su menor concentración, se puede prever una mayor dificultad para su cuantificación (concentraciones por debajo del límite de cuantificación) en el dializado para estos metales siempre y cuando sean bio-disponibles.

Además se observa que entre los entornos de Sanidad e IUMA no hay diferencias importantes en sus rangos de concentraciones, prácticamente todos los metales abarcan los mismos intervalos (Anexo 1).

Haciendo una comparación entre los entornos de Sanidad e IUMA con el entorno de Sabón, se aprecia un ligero aumento en las concentraciones de As, Cu, Fe, Zn y Sb, manteniéndose las demás metales prácticamente en los mismos rangos. Algunos de estos metales (As, Cu y Zn) están asociados a fuentes de origen antropogénico (X. Querol, 2008). Dentro de cada entorno, comparando las concentraciones de metales en  $\text{PM}_{10}$  y  $\text{PM}_{2,5}$  se observa un cambio, en general son mayores las concentraciones de cada metal en  $\text{PM}_{10}$ .

## 5.2. FRACCIÓN BIO-DISPONIBLE

Las concentraciones de la fracción bio-disponible están detalladas en el Tabla 7, expresadas en ng/m<sup>3</sup>. Cabría esperar que los metales mayoritarios en esta fracción fueran los mismos que los metales mayoritarios encontrados en los extractos ácidos (contenido total de metal). Sin embargo, al examinar con detalle estas concentraciones, se observó que en la fracción bio-disponible las mayores concentraciones se corresponden con los siguientes metales: Ca, Cu, Fe, Mg, Ni, Sr y el Zn. El resto de metales están comprendidos en unas concentraciones muy inferiores que no llegan a 10 ng/m<sup>3</sup>.

Tabla 7: Concentración metálica en la fracción bio-disponible expresada  $\bar{X} \pm SD$  (ng/m<sup>3</sup>).

Concentración metálica en la fracción bio-disponible expresada $\bar{X} \pm SD$ (ng/m <sup>3</sup> )						
Sanidad PM <sub>10</sub>	Al	As	Bi	Ca	Cd	Cr
08/06/04	<0,27	2,1±0,54	<0,001	517±8,9	<0,001	0,94±0,031
10/07/04	<0,27	1,4±0,45	<0,001	952±143,4	0,16±0,024	1,7±0,29
28/08/04	<0,27	<0,056	<0,001	538±63,8	0,12±0,002	1,1±0,23
29/09/04	<0,27	1,5±0,14	<0,001	584±78,4	0,26±0,035	0,92±0,094
30/10/04	<0,27	<0,056	<0,001	629±71,5	0,03±0,001	<0,006
23/11/04	<0,27	5,3±1,86	0,26±0,032	— <sup>a</sup>	1,3±0,012	2,1±0,32
25/12/04	<0,27	0,90±0,16	<0,001	471±12,9	<0,001	0,65±0,11
Sanidad PM <sub>10</sub>	Cu	Fe	Mg	Ni	Pb	Sb
08/06/04	78,6±8,7	140±15,8	<0,79	7,7±1,6	12,5±2,7	2,9±0,063
19/07/04	33,7±9,4	261±55,3	91,3±15,4	3,6±0,78	8,6±1,7	2,1±0,29
05/09/04	25,7±5,2	187±30,8	43,1±8,3	4,2±0,66	9,1±1,6	2,0±0,11
27/09/04	16,1±1,6	147±18,7	99,6±12,03	14,1±1,5	4,6±0,29	2,0±0,24
07/10/04	6,9±0,94	28,2±1,5	381±11,3	<0,19	0,86±0,054	<0,034
08/11/04	98,4±8,2	1054±53,4	132±11,2	19,7±0,051	25,8±3,8	6,3±0,55
03/01/05	<0,58	25,4±0,6	291±36,7	<0,19	<0,012	0,4±0,01
Sanidad PM <sub>10</sub>	Se	Sr	V	Zn		
08/06/04	<0,14	12,7±2,8	0,94±0,18	30,3±0,061		
10/07/04	<0,14	28,4±3,3	0,39±0,043	25,8±5,0		
28/08/04	<0,14	9,8±0,42	0,46±0,082	27,8±0,41		
29/09/04	<0,14	11,5±1,4	2,7±0,39	12,2±2,7		
30/10/04	<0,14	26,6±0,12	0,32±0,012	17,9±3,4		
23/11/04	0,54±0,07	26,3±3,1	3,3±0,75	42,9±4,3		
25/12/04	0,90±0,21	20,5±1,1	<0,0002	<0,13		
IUMA PM <sub>10</sub>	Al	As	Bi	Ca	Cd	Cr
17/06/04	10,8±0,96	3,5±0,49	0,328±0,004	<3,4	0,37±0,051	3,4±0,16
19/07/04	<0,27	1,8±0,19	<0,001	<3,4	<0,001	<0,005
07/10/04	<0,27	3,5±0,12	0,105±0,02	<3,4	0,41±0,032	2,0±0,031
05/09/04	<0,27	<0,056	<0,001	<3,4	0,12±0,086	<0,005
08/11/04	<0,27	2,4±0,13	<0,001	<3,4	0,13±0,007	0,30±0,05
02/12/04	<0,27	4,3±0,61	<0,001	<3,4	0,40±0,036	0,87±0,22
03/01/05	<0,27	<0,056	<0,001	<3,4	0,36±0,036	1,8±0,047
IUMA PM <sub>10</sub>	Cu	Fe	Mg	Ni	Pb	Sb
17/06/04	13,9±0,16	— <sup>a</sup>	50,5±12,2	24,3±1,4	5,2±1,2	1,5±0,069
19/07/04	10,8±2,2	92,3±15,7	<0,79	9,9±0,77	<0,012	1,1±0,045
07/10/04	19,4±2,3	87,3±6,2	<0,79	15,8±2,8	5,3±0,96	2,5±0,004
05/09/04	11,2±2,2	<1,30	93,0±2,6	<0,19	<0,012	<0,007
08/11/04	8,9±0,44	45,8±0,095	102±22,4	<0,19	8,4±0,37	0,84±0,11
02/12/04	14,2±1,3	124±11,7	104±1,5	6,9±0,97	15,0±1,5	1,0±0,050
03/01/05	9,0±0,43	141±2,3	80,5±0,11	3,0±0,50	<0,012	<0,007

Tabla 7: Concentración metálica en la fracción bio-disponible expresada  $\bar{X} \pm SD$  (ng/m<sup>3</sup>).

Concentración metálica en la fracción bio-disponible expresada $\bar{X} \pm SD$ (ng/m <sup>3</sup> )						
IUMA PM <sub>10</sub>	Se	Sr	V	Zn		
17/06/04	<0,14	5,4±0,30	5,2±0,10	<0,13		
19/07/04	<0,14	2,6±0,25	2,9±0,14	0,78±0,13		
07/10/04	1,3±0,23	14,5±0,45	2,8±0,10	4,2±0,59		
05/09/04	<0,14	<0,021	0,51±0,13	<0,13		
08/11/04	0,81±0,10	6,5±1,13	0,51±0,023	6,1±0,48		
02/12/04	0,91±0,05	5,1±0,10	0,76±0,048	<0,13		
03/01/05	<0,14	4,3±0,47	0,46±0,12	17,8±3,9		
IUMA PM <sub>2,5</sub>	Al	As	Bi	Ca	Cd	Cr
17/06/04	<0,28	<0,054	<0,005	— <sup>a</sup>	<0,002	<0,006
19/07/04	<0,28	<0,054	<0,005	<6,8	<0,002	0,81±0,01
05/09/04	<0,28	5,3±1,21	<0,005	— <sup>a</sup>	0,26±0,011	<0,006
07/10/04	<0,28	<0,054	<0,005	<6,8	<0,002	<0,006
08/11/04	<0,28	4,5±0,47	<0,005	<6,8	<0,002	<0,006
03/01/05	<0,28	<0,054	<0,005	<6,8	0,14±0,108	0,29±0,1
IUMA PM <sub>2,5</sub>	Cu	Fe	Mg	Ni	Pb	Sb
17/06/04	<0,20	— <sup>a</sup>	<1,1	25,3±5,1	<0,008	<0,007
19/07/04	<0,20	<0,84	<1,1	13,9±2,7	<0,008	<0,007
05/09/04	<0,20	35,44±3,09	<1,1	13,3±2,12	2,8±0,49	1,3±0,99
07/10/04	<0,20	<0,84	<1,1	<0,03	<0,008	<0,007
08/11/04	5,0±0,84	29,6±1,6	<1,1	<0,03	11,0±2,0	<0,007
03/01/05	<0,20	— <sup>a</sup>	<1,1	<0,03	<0,008	<0,007
IUMA PM <sub>2,5</sub>	Se	Sr	V	Zn		
17/06/04	<0,15	<0,058	4,1±0,15	19,5±1,4		
19/07/04	<0,15	<0,058	2,1±0,42	13,3±0,03		
05/09/04	<0,15	10,7±2,0	2,5±0,2	23,9±3,4		
07/10/04	<0,15	<0,058	<0,0007	<0,044		
08/11/04	<0,15	<0,058	0,37±0,029	18,2±3,0		
03/01/05	<0,15	<0,058	<0,0007	<0,044		
Sabón PM <sub>10</sub>	Al	As	Bi	Ca	Cd	Cr
17/06/04	<0,27	<0,056	<0,001	<3,4	<0,001	<0,005
19/07/04	<0,27	3,7±0,87	<0,001	<3,4	<0,001	2,2±0,39
05/09/04	<0,27	8,7±1,8	<0,001	<3,4	0,47±0,030	4,9±0,29
27/09/04	<0,27	7,6±0,46	<0,001	<3,4	<0,001	2,3±0,37
07/10/04	<0,27	<0,056	<0,001	<3,4	<0,001	1,7±0,40
08/11/04	<0,27	<0,056	<0,001	<3,4	<0,001	1,5±0,42
02/12/04	<0,27	4,9±0,92	<0,001	<3,4	<0,001	2,6±0,84
03/01/05	<0,27	6,4±1,4	<0,001	<3,4	<0,001	2,2±0,29
Sabón PM <sub>10</sub>	Cu	Fe	Mg	Ni	Pb	Sb
17/06/04	22,1±4,1	266±26,4	<0,79	16,1±1,5	5,7±1,3	1,7±0,55
19/07/04	38,4±0,21	144±31,5	<0,79	7,7±1,04	<0,012	1,3±0,12
05/09/04	66,6±4,7	179±18,6	316±42,1	13,9±1,1	4,9±0,8	3,4±0,32
27/09/04	69,6±7,86	442±46,9	115±26,3	21,3±1,8	10,1±1,9	1,9±0,24
07/10/04	46,7±3,51	286±6,6	465±51,5	11,6±0,63	16,4±0,41	1,7±0,40
08/11/04	37,4±6,1	384±43,9	158±35,3	15,9±3,5	12,1±1,0	1,3±0,29
02/12/04	39,3±4,13	264±20,1	146±0,91	11,1±0,62	<0,012	2,6±0,46
03/01/05	38,6±11,1 2	979±65,1	77,9±11,5	6,6±0,11	<0,012	2,0±0,51
Sabón PM <sub>10</sub>	Se	Sr	V	Zn		
17/06/04	2,4±0,11	<0,021	3,8±0,49	<0,13		
19/07/04	1,2±0,071	11,6±2,5	2,4±0,035	<0,13		
05/09/04	3,1±0,68	20,5±0,54	3,5±0,27	6,2±1,1		
27/09/04	1,2±0,14	15,2±0,61	3,0±0,53	<0,13		
07/10/04	<0,14	29,8±0,26	1,0±0,21	20,9±3,0		
08/11/04	1,4±0,20	8,3±1,5	1,3±0,24	<0,13		
02/12/04	<0,14	14,0±1,5	2,3±0,13	<0,13		
03/01/05	1,1±0,17	13,4±2,7	<0,0002	22,7±3,9		

Tabla 7: Concentración metálica en la fracción bio-disponible expresada  $\bar{X} \pm SD$  (ng/m<sup>3</sup>).

Concentración metálica en la fracción bio-disponible expresada $\bar{X} \pm SD$ (ng/m <sup>3</sup> )						
IUMA PM <sub>2,5</sub>	Al	As	Bi	Ca	Cd	Cr
17/06/04	<0,28	<0,054	<0,005	— <sup>a</sup>	<0,002	<0,006
19/07/04	<0,28	<0,054	<0,005	<6,8	<0,002	0,81±0,014
05/09/04	<0,28	5,3±1,21	<0,005	— <sup>a</sup>	0,26±0,011	<0,006
07/10/04	<0,28	<0,054	<0,005	<6,8	<0,002	<0,006
08/11/04	<0,28	4,5±0,47	<0,005	<6,8	<0,002	<0,006
03/01/05	<0,28	<0,054	<0,005	<6,8	0,14±0,108	0,29±0,098
IUMA PM <sub>2,5</sub>	Cu	Fe	Mg	Ni	Pb	Sb
17/06/04	<0,20	— <sup>a</sup>	<1,1	25,3±5,1	<0,008	<0,007
19/07/04	<0,20	<0,84	<1,1	13,9±2,7	<0,008	<0,007
05/09/04	<0,20	35,44±3,09	<1,1	13,3±2,12	2,8±0,49	1,3±0,99
07/10/04	<0,20	<0,84	<1,1	<0,03	<0,008	<0,007
08/11/04	5,0±0,84	29,6±1,6	<1,1	<0,03	11,0±2,0	<0,007
03/01/05	<0,20	— <sup>a</sup>	<1,1	<0,03	<0,008	<0,007
IUMA PM <sub>2,5</sub>	Se	Sr	V	Zn		
17/06/04	<0,15	<0,058	4,1±0,15	19,5±1,4		
19/07/04	<0,15	<0,058	2,1±0,42	13,3±0,03		
05/09/04	<0,15	10,7±2,0	2,5±0,2	23,9±3,4		
07/10/04	<0,15	<0,058	<0,0007	<0,044		
08/11/04	<0,15	<0,058	0,37±0,029	18,2±3,0		
03/01/05	<0,15	<0,058	<0,0007	<0,044		
Sabón PM <sub>10</sub>	Al	As	Bi	Ca	Cd	Cr
17/06/04	<0,27	<0,056	<0,001	<3,4	<0,001	<0,005
19/07/04	<0,27	3,7±0,87	<0,001	<3,4	<0,001	2,2±0,39
05/09/04	<0,27	8,7±1,8	<0,001	<3,4	0,47±0,030	4,9±0,29
27/09/04	<0,27	7,6±0,46	<0,001	<3,4	<0,001	2,3±0,37
07/10/04	<0,27	<0,056	<0,001	<3,4	<0,001	1,7±0,40
08/11/04	<0,27	<0,056	<0,001	<3,4	<0,001	1,5±0,42
02/12/04	<0,27	4,9±0,92	<0,001	<3,4	<0,001	2,6±0,84
03/01/05	<0,27	6,4±1,4	<0,001	<3,4	<0,001	2,2±0,29
Sabón PM <sub>10</sub>	Cu	Fe	Mg	Ni	Pb	Sb
17/06/04	22,1±4,1	266±26,4	<0,79	16,1±1,5	5,7±1,3	1,7±0,55
19/07/04	38,4±0,21	144±31,5	<0,79	7,7±1,04	<0,012	1,3±0,12
05/09/04	66,6±4,7	179±18,6	316±42,1	13,9±1,1	4,9±0,8	3,4±0,32
27/09/04	69,6±7,86	442±46,9	115±26,3	21,3±1,8	10,1±1,9	1,9±0,24
07/10/04	46,7±3,51	286±6,6	465±51,5	11,6±0,63	16,4±0,41	1,7±0,40
08/11/04	37,4±6,1	384±43,9	158±35,3	15,9±3,5	12,1±1,0	1,3±0,29
02/12/04	39,3±4,13	264±20,1	146±0,91	11,1±0,62	<0,012	2,6±0,46
03/01/05	38,6±11,12	979±65,1	77,9±11,5	6,6±0,11	<0,012	2,0±0,51
Sabón PM <sub>10</sub>	Se	Sr	V	Zn		
17/06/04	2,4±0,11	<0,021	3,8±0,49	<0,13		
19/07/04	1,2±0,071	11,6±2,5	2,4±0,035	<0,13		
05/09/04	3,1±0,68	20,5±0,54	3,5±0,27	6,2±1,1		
27/09/04	1,2±0,14	15,2±0,61	3,0±0,53	<0,13		
07/10/04	<0,14	29,8±0,26	1,0±0,21	20,9±3,0		
08/11/04	1,4±0,20	8,3±1,5	1,3±0,24	<0,13		
02/12/04	<0,14	14,0±1,5	2,3±0,13	<0,13		
03/01/05	1,1±0,17	13,4±2,7	<0,0002	22,7±3,9		

—<sup>a</sup> Dato anómalo

Haciendo una comparación entre los resultados de los tres entornos no se observan diferencias importantes en los rangos de concentración. Donde sí se aprecia estas



diferencias es entre las concentraciones de las fracciones de PM<sub>10</sub> y PM<sub>2,5</sub>, siendo mayores en las fracciones de PM<sub>10</sub>, al igual que ocurría con las concentraciones totales de los metales en el extracto ácido.

Cabe mencionar que muchas de las concentraciones se encuentran por debajo o muy próximos al límite de cuantificación (Al, Bi, Ca, Mg y Se en el entorno de Sanidad e IUMA y Bi, Ca, Se, Mg, Pb, Sb y Sr en el entorno de Sabón).

En la Tabla 8 se muestran los porcentajes de bio-disponibilidad para cada metal. Estos porcentajes fueron obtenidos mediante la aplicación de la siguiente ecuación:

$$\% = \frac{[Metal_{Dializado}]}{[Metal_{extracto\acute{A}cido}]} \times 100 \quad Ecuaci3n\ 3$$

donde  $[Metal_{Dializado}]$  la concentración de metal en el dializado y  $[Metal_{Extracto\acute{A}cido}]$  es la concentración total (tras la extracción ácida), ambas expresadas en en ng/m<sup>3</sup>.

Tabla 8: Porcentajes de bio-disponibilidad calculados a partir de la Ecuación 3.

% Bio-disponibilidad								
Sanidad PM <sub>10</sub>	Al	As	Bi	Ca	Cd	Cr	Cu	Fe
08/06/04	—a	0,62	—a	68,3	—a	0,022	0,19	16,2
10/07/04	—a	0,33	—a	58,6	0,15	0,064	0,12	32,3
28/08/04	—a	—a	—a	105	0,22	0,041	0,081	38,7
29/09/04	—a	0,34	—a	96,3	0,20	0,058	0,053	30,0
30/10/04	—a	—a	—a	105	0,065	—a	0,059	21,5
23/11/04	—a	0,26	0,035	85,0	0,23	0,021	0,10	59,9
25/12/04	—a	0,62	—a	116	—a	—a	—a	26,7
Sanidad PM <sub>10</sub>	Mg	Ni	Pb	Sb	Se	Sr	V	Zn
08/06/04	—a	0,19	0,065	0,076	—a	0,38	0,012	0,063
10/07/04	22,6	0,21	0,13	0,080	—a	0,39	0,009	0,15
28/08/04	20,1	0,22	0,17	0,073	—a	0,35	0,012	0,14
29/09/04	38,1	0,19	0,078	0,13	—a	0,45	0,019	0,066
30/10/04	46,5	—a	0,017	—a	—a	0,53	0,014	0,15
23/11/04	38,8	0,15	0,086	0,050	0,060	0,45	0,016	0,044
25/12/04	37,5	—a	—a	0,097	0,67	0,42	—a	—a
IUMA PM <sub>10</sub>	Al	As	Bi	Ca	Cd	Cr	Cu	Fe
17/06/04	2,2	0,26	0,13	—a	0,19	0,20	0,074	—b
19/07/04	—a	0,33	—a	—a	—a	—a	0,085	47,8
07/10/04	—a	0,31	0,043	—a	0,17	0,16	0,078	28,9
05/09/04	—a	—a	—a	—a	0,12	—a	0,038	—a
08/11/04	—a	0,46	—a	—a	0,20	0,009	0,052	27,4
02/12/04	—a	0,22	—a	—a	0,19	0,024	0,067	51,5
03/01/05	—a	—a	—a	—a	0,18	0,10	0,50	66,7
IUMA PM <sub>10</sub>	Mg	Ni	Pb	Sb	Se	Sr	V	Zn
17/06/04	46,8	0,20	0,058	0,21	—a	0,35	0,022	—a
19/07/04	—a	0,17	—a	0,13	—a	0,30	0,024	0,008
07/10/04	—a	0,30	0,069	0,16	0,12	0,35	0,022	0,017
05/09/04	33,4	—a	—a	—a	—a	—a	0,011	—a
08/11/04	60,8	—a	0,075	0,16	0,33	0,41	0,018	0,016
02/12/04	56,9	0,14	0,15	0,078	0,053	0,34	0,013	—a
03/01/05	5,4	0,11	—a	—a	—a	0,19	0,001	0,044
IUMA PM <sub>2,5</sub>	Al	As	Bi	Ca	Cd	Cr	Cu	Fe
17/06/04	—a	—a	—a	—b	—a	—a	—a	—b
19/07/04	—a	—a	—a	—a	—a	—a	—a	—a
05/09/04	—a	0,61	—a	—b	0,12	0,086	—a	30,5
07/10/04	—a	—a	—a	—a	—a	—a	—a	—a
08/11/04	—a	0,91	—a	—a	—a	—a	0,028	88,4
03/01/05	—a	—a	—a	—a	0,12	0,030	—a	—b
IUMA PM <sub>2,5</sub>	Mg	Ni	Pb	Sb	Se	Sr	V	Zn
17/06/04	—a	0,36	—a	—a	—a	—a	0,024	0,18
19/07/04	—a	0,24	—a	—a	—a	—a	0,022	0,055
05/09/04	—a	0,27	0,041	0,18	—a	0,52	0,026	0,18
07/10/04	—a	—a	—a	—a	—a	—a	—a	—a
08/11/04	—a	—a	0,10	—a	—a	—a	0,019	0,046
03/01/05	—a	—a	—a	—a	—a	—a	—a	—a
Sabón PM <sub>10</sub>	Al	As	Bi	Ca	Cd	Cr	Cu	Fe
17/06/04	—a	—a	—a	—a	—a	—a	0,10	58,0
19/07/04	—a	0,26	—a	—a	—a	0,084	0,12	22,3
05/09/04	—a	0,44	—a	—a	0,17	0,13	0,11	22,5
27/09/04	—a	0,33	—a	—a	—a	0,03	0,087	25,7
07/10/04	—a	—a	—a	—a	—a	0,024	0,083	15,3
08/11/04	—a	—a	—a	—a	—a	0,015	0,088	11,6
02/12/04	—a	0,31	—a	—a	—a	0,033	0,074	19,3
03/01/05	—a	0,38	—a	—a	—a	0,027	0,077	30,1

Tabla 8: Continuación Porcentajes de bio-disponibilidad calculados a partir de la Ecuación 3.

% Bio-disponibilidad								
Sabón PM <sub>10</sub>	Mg	Ni	Pb	Sb	Se	Sr	V	Zn
17/06/04	— <sup>a</sup>	0,23	0,10	0,20	0,20	— <sup>a</sup>	0,024	— <sup>a</sup>
19/07/04	— <sup>a</sup>	0,19	— <sup>a</sup>	0,16	0,39	0,30	0,028	— <sup>a</sup>
05/09/04	42,0	0,14	0,061	0,22	0,18	0,37	0,016	0,013
27/09/04	27,7	0,15	0,10	0,10	0,089	0,26	0,016	— <sup>a</sup>
07/10/04	39,0	0,13	0,14	0,14	— <sup>a</sup>	0,39	0,013	0,037
08/11/04	44,6	0,13	0,19	0,15	0,11	0,37	0,013	— <sup>a</sup>
02/12/04	39,8	0,10	— <sup>a</sup>	0,14	— <sup>a</sup>	0,46	0,019	— <sup>a</sup>
03/01/05	40,6	0,12	— <sup>a</sup>	0,071	0,24	0,39	— <sup>a</sup>	0,025
Sabón PM <sub>2,5</sub>	Al	As	Bi	Ca	Cd	Cr	Cu	Fe
17/06/04	— <sup>a</sup>	0,39	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	0,069	52,8
19/07/04	— <sup>a</sup>	1,2	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	0,084	28,4
05/09/04	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	3,0	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	— <sup>b</sup>
27/09/04	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	0,043	0,053	32,5
07/10/04	— <sup>a</sup>	0,54	— <sup>a</sup>	118	— <sup>a</sup>	0,019	0,074	6,4
08/11/04	— <sup>a</sup>	0,31	— <sup>a</sup>	108	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	10,0
03/01/05	— <sup>a</sup>	0,52	— <sup>a</sup>	46,1	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	0,044	52,1
Sabón PM <sub>2,5</sub>	Mg	Ni	Pb	Sb	Se	Sr	V	Zn
17/06/04	39,9	0,20	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	0,022	— <sup>a</sup>
19/07/04	— <sup>b</sup>	0,24	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	0,026	— <sup>a</sup>
05/09/04	37,3	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>
27/09/04	34,1	0,16	— <sup>a</sup>	0,038	— <sup>a</sup>	0,26	0,019	— <sup>a</sup>
07/10/04	— <sup>a</sup>	0,18	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	0,52	0,024	— <sup>a</sup>
08/11/04	— <sup>a</sup>	0,15	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	0,61	0,021	0,050
03/01/05	— <sup>a</sup>	0,13	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	— <sup>a</sup>	0,22	0,019	— <sup>a</sup>

—<sup>a</sup>: datos no disponible, concentración en el dializado <LOQ.

—<sup>b</sup>: datos no disponible, concentración anómala en el dializado.

A la vista de los resultados mostrados en la Tabla 8, se puede decir que el Ca presenta una biodisponibilidad elevada (porcentajes de biodisponibilidad en un rango del 50 al 100%). Indicar que para ciertas muestras los porcentajes de biodisponibilidad para este metal no se han podido obtener debido a que las concentraciones de Ca en los dializados se encuentran por debajo del límite de cuantificación. Lo que sí podemos decir es que siempre que se han podido cuantificar los porcentajes de biodisponibilidad son elevados.

El Fe y el Mg presentan una biodisponibilidad moderada (porcentajes de biodisponibilidad en un rango del 10 al 60%). Para el Mg podemos indicar lo mismo que lo comentado para el Ca; los porcentajes de biodisponibilidad son elevados a pesar de

que para muchos dializados la concentración de este metal se encuentre por debajo del límite de cuantificación.

El resto de metales estudiados presentan una baja biodisponibilidad; inferior al 3.0% para As, Bi y Cd, e inferior al 0.6 % para los demás (Cr, Cu, Ni, Pb, Sb, Se, Sr, V y Zn).

En cuanto a los resultados mostrados en las Tablas 7-9 (Anexo 1), los metales mayoritarios en las muestras de particulado como son el Cu, Cr, Ni, Pb y Zn ofrecen una baja bio-disponibilidad, lo que nos permiten concluir que no siempre existe una correlación directa entre concentración total del metal presente en las muestras de PM y su bio-disponibilidad. De ahí la importancia de conocer la fracción de contaminantes bio-disponibles. Indicar también que no se han encontrado diferencias importantes en los porcentajes de biodisponibilidad entre los distintos entornos, ni entre los diferentes tamaños de materia particulada.

Finalmente, a pesar de que no existen estudios previos similares a los presentados en este trabajo, se ha considerado oportuno comparar los resultados obtenidos (porcentajes de bio-disponibilidad) con otros estudios basados en el cálculo de fracción bio-accesible de metales en materia particulada. Los datos recogidos en la bibliografía indican porcentajes de bio-accesibilidad muy superiores para la mayoría de los elementos estudiados. Para el Pb los porcentajes de bio-accesibilidad en PM<sub>10</sub> varían entre 10-23 % (Price, 2008, Uzu, 2011) y 34-97 % (Limbeck, 2011). Valores similares para la bio-accesibilidad se han publicado en PM<sub>2.5</sub> (Uzu, 2011). Para el Ni los porcentajes de bio-accesibilidad se encuentran en el intervalo de 11 a 26 % en particulado total y PM<sub>2.5</sub> (Hu, 2012) y 34% en PM<sub>10</sub> publicados por Limbeck et al (Limbeck, 2011). Para As, Cd, Cu, Cr y Zn los porcentajes de bio-accesibilidad se encuentran entre los rangos de 40-55, 59-74, 31-45, 7-18 y 59-75 %, respectivamente para materia particulada total y 35-62, 55-72, 25-37, 9-15 y 52-74 % para As, Cd, Cu, Cr y Zn en PM<sub>2.5</sub>. Estos mayores porcentajes de bio-accesibilidad en comparación con los porcentajes de bio-disponibilidad se debe fundamentalmente a la omisión de la etapa de diálisis.

## 6. CONCLUSIONES

- ❖ Se evaluó la bio-disponibilidad oral de metales esenciales y tóxicos en materia particulada, utilizando una aproximación *in-vitro*. Para ello se empleó una membrana de diálisis durante el proceso simulado de digestión gastro-intestinal.
- ❖ Metales esenciales como el Ca, Fe y Mg resultaron ser los más bio-disponibles: porcentajes de bio-disponibilidad comprendidos entre el 60 y el 100% para el Ca, y porcentajes de bio-disponibilidad entre el 10 y el 60% para el Fe y Mg.
- ❖ Los demás metales (As, Bi, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Sb, Se, Sr, V y Zn) estudiados presentaron bajos porcentajes de bio-disponibilidad (menores al 3.0%).
- ❖ Es importante destacar que metales tóxicos como el As, Cd y Pb cuyas concentraciones en la materia particulada se pueden considerar elevadas, no supondrían un importante riesgo para la salud en vista de los bajos porcentajes de bio-disponibilidad alcanzados en este estudio.



## BIBLIOGRAFÍA

- 2008/50, R. (. (21 de mayo de 2008). Diario Oficial de la Unión Europea .
- 995/2000, R. D. (2 de junio de 2000). Ministerio de Medio Ambiente.
- Andrew Turner, B. H. (2010). Levels and Bioaccessibilities of Metals in Dusts from an Arid Environment. *210*, 483-491.
- Andrew Turner, L. S. (2006). Elemental concentrations and metal bioaccessibility in UK household dust. *371*, 74-81.
- Azam Mukhtar, A. L. (2013). Recent developments in assessment of bio-accessible trace metal fractions in airborne particulate matter: A review. *Analytica Chimica Acta*, 11-25.
- C. Patinha, N. D. (2015). Assessment of the influence of traffic-related particles in urban dust using sequential selective extraction and oral bioaccessibility tests. *Environ Geochem Health*, 707-724.
- Christoph Puls, A. L. (2012). Bioaccessibility of palladium and platinum in urban aerosol particulate. *Atmospheric Environment*, 213-219.
- Claudia Colombo, A. J. (2008). The estimation of the bioavailabilities of platinum, palladium and rhodium in vehicle exhaust catalysts and road dusts using a physiologically based extraction test. 46-51.
- D. P. Oliver, M. M. (1999). Measuring Pb Bioavailability from Household Dusts Using an in Vitro Model. *Environmental Science & Technology*, 33, 4434-4439.
- Drexler, J. &. (2007). An in vitro procedure for estimation of lead bioavailability: With validation. *Humans and Ecological Risk Assessment*, 13, 383-401.
- Finlayson-Pitts, B. J. (2000). *Chemistry of the upper and lower atmosphere. Theory, experiments and applications*. San Diego: Academic Press.
- Gaëlle Uzu, J.-J. S.-S. (2011). In vitro Assessment of the Pulmonary Toxicity and Gastric Availability of Lead-Rich Particles from a Lead Recycling Plant. *Environmental Science & Technology*, 45, 7888-7895.
- Heras, G. A. (2009). *Determinación de aniones, cationes y ácidos orgánicos en material particulado atmosférico mediante electroforesis capilar*. Tesis DOCTORAL INEDITA, UDC, Química Analítica, A Coruña.
- J. Luten, H. C. (1996). Interlaboratory trial on the determination of the in vitro iron dialyzability from food. *Journal of the Science of Food Agriculture.*, 72, 415-424.
- Jawad Ali Hussein Alpothead, C. M. (2016). Oral bioaccessibility test to measure potentially toxic elements in inhalable particulate matter collected during routine air quality monitoring. *Analytical Methods*, 5466-5474.
- Jirina Sysalová, J. S. (2014). Methodological Aspects of In Vitro Assessment of Bio-accessible Risk Element Pool in Urban Particulate Matter. *Biol Trace Elem Res*, 216-222.

- Jorge Moreda-Piñeiro, I. T.-C.-R.-P.-H.-M.-L.-R. (2015). The Influence of Oceanic Air Masses on Concentration of Major Ions and Trace Metals in PM<sub>2,5</sub> Fraction at a Coastal European Suburban Site. *Water Air Soil Pollut*(226), 2240-2255.
- Ka-Hei, A. T. (2007). bioaccessibility of Metals in Dust From the Indoor Environment: Application of a physiologically based extraction test. *Environmental Science and Technology*, 41, 7851-7856.
- Limbeck, A. M. (2011). Development of an ETV-ICP-OES procedure for assessment of bio-accessible trace metal fractions in airborne particulate matter. *JAAS*, 26, 2081.
- M. Piñeiro Iglesias, P. L. (2003). A new method for the simultaneous determination of PAH and metals in samples of atmospheric particulate matter. *Atmospheric Environment*, 37, 4171-4175.
- McMurry, P. H. (2000). A review of atmospheric aerosol measurements. *Atmospheric Environment*, 34, 1959-1999.
- Michael V. Ruby, A. D. (1996). Estimation of Lead and Arsenic Bioavailability Using a Physiologically Based Extraction Test. *Environmental Science & Technology*, 30(2), 422-430.
- Minjuan Huang, W. W. (2014). Contamination and risk assessment (based on bioaccessibility via ingestion and inhalation) of metal (loid)s in outdoor and indoor particles from urban centers of Guangzhou, China. *Science of the Total Environment*, 117-124.
- Minjuan Huang, X. C. (2014). Arsenic speciation in total contents and bioaccessible fractions in atmospheric particles related to human intakes. 37-44.
- Nº2004/107, R. (. (15 de diciembre de 2004). Diario Oficial de la Unión Europea.
- P. KulKardi, B. P. (2011). Aerosol Measurements. Principles, Techniques and Applications. *John Wiley and Sons Inc.*
- Pey, J. (2007). Caracterización físico-química de los aerosoles atmosféricos en el Mediterráneo occidental.
- Price, A. T. (2008). Bioaccessibility of Platinum Group Elements in Automotive Catalytic Converter Particulates. *Environmental Science & Technology*, 42, 9443-9448.
- S.N., S. J. (1998). Atmospheric chemistry and physics: from air pollution to climate change. *John Wiley and Sons Inc.*
- Samitier, S. I. (2013). *Composición química y variación temporal de la materia particulada, gases y nanopartículas atmosféricas en un área suburbana*. Tesis DOCTORAL INÉDITA, UDC, Química Analítica, A Coruña.
- Stephanie C. Hamel, B. B. (1998). Bioaccessibility of Metals in Soils For Different Liquid to Solid Ratios in Synthetic Gastric Fluid. *Environmental Science & Technology*, 32, 358-362.
- Thomas Falta, A. L. (2008). Bioaccessibility of selected trace metals in urban PM<sub>2,5</sub> and PM<sub>10</sub> samples: a model study. *Anal Bioanal Chem*, 390, 1149-1157.
- Turner, A. (2011). Oral Bioaccessibility of trace metals in household dust: a review. *Environ GEOchem Health*, 33:331-341.



- U.S.E.P. (2004). Obtenido de Air quality criteria for articulate matter:  
<http://cfpub.epa.gov/ncea/cfm/recordisplay.cfm?deid=87903>
- UNE-EN12341:1999. (s.f.). Calidad del aire. Determinación de la fracción PM 10 de la materia particulada en suspensión. Método de referencia y procedimiento de ensayo de campo para demostrar la equivalencia de los métodos de medida al de referencia.
- UNE-EN14907. (s.f.). Calidad del aire ambiente. Método gravimétrico de medida para la determinación de la fracción másica PM 2,5 de la materia particulada en suspensión.
- V. Romarís-Hortas, C. G.-S.-A.-G.-P.-B. (2010). Bioavailability study using an in-vitro method of iodine and bromine in edible seaweed. *Food Chemistry*, 124, 1747-1752.
- Wolfram Birmili, A. G. (2006). Trace Metal Concentrations and Water Solubility in Size-Fractionated Atmospheric Particles and Influence of Road Traffic. *Environmental Science & Technology*, 40, 1144-1153.
- X. Querol, A. A. (2008). Spatial and temporal variations in airborne particulate matter (PM10 and PM2,5) across Spain 1999-2005. *Atmospheric Environment*, 42, 3964-3979.
- Xin Hu, Y. Z. (2012). Bioaccessibility and health risk of arsenic and heavy metals (Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn and Mn) in TSP and PM2.5 in Nanjing, China. *Atmospheric Environment*, 146-152.



# ANEXO 1

Tabla 7: Concentración total en ng/m<sup>3</sup>.

Concentración total (ng/m <sup>3</sup> )								
Sanidad PM <sub>10</sub>	Al	As	Bi	Ca	Cd	Cr	Cu	Fe
08/06/04	474	348	210	757	183	4282	42085	861
10/07/04	741	409	100	1624	108	2611	29320	810
28/08/04	242	203	116	513	55,3	2630	31601	484
29/09/04	302	449	120	606	132	1575	30234	493
30/10/04	42,1	473	20,6	425	48,4	2095	11684	131
23/11/04	1125	2041	740	1309	555	9860	98119	211
25/12/04	40,7	145	24,8	405	45,7	<LOD	13084	95,1
Sanidad PM <sub>10</sub>	Mg	Ni	Pb	Sb	Se	Sr	V	Zn
08/06/04	220	4105	19395	3800	362	3325	7742	48152
10/07/04	405	1716	6382	2566	665	7330	4218	17556
28/08/04	214	1940	5270	2675	362	2768	4040	19604
29/09/04	262	7270	5930	1525	413	2542	14405	18448
30/10/04	819	2705	5143	651	441	5009	2287	12020
23/11/04	340	12884	30196	12755	904	5907	20406	97990
25/12/04	800	693	929	420	134	4837	500	18694
IUMA PM <sub>10</sub>	Al	As	Bi	Ca	Cd	Cr	Cu	Fe
17/06/04	484	1325	261	237	198	1702	18827	338
19/07/04	120	552	73,4	263	46,9	2014	14300	193
07/10/04	44,8	606	44,6	259	101	1151	29284	184
05/09/04	335	1131	246	250	243	1228	24941	302
08/11/04	128	520	27,4	130	65,3	3506	17262	167
02/12/04	143	1915	65,3	139	213	3604	21105	241
03/01/05	174	706	110	200	205	1740	18066	212
IUMA PM <sub>10</sub>	Mg	Ni	Pb	Sb	Se	Sr	V	Zn
17/06/04	108	12304	8940	728	1396	1542	23960	26525
19/07/04	70,7	5988	2311	842	559	846	12283	9727
07/10/04	336	2599	10130	685	934	2175	4650	53224
05/09/04	277	5198	7659	1561	1090	4162	12829	24991
08/11/04	168	2821	11233	529	248	1580	2782	37782
02/12/04	183	5041	9880	1334	1705	1498	5852	34906
03/01/05	150	2848	6816	1262	1140	2256	3705	40098
IUMA PM <sub>2,5</sub>	Al	As	Bi	Ca	Cd	Cr	Cu	Fe
17/06/04	69,0	1241	169	217	269	1515	13716	84,7
19/07/04	82,8	471	44,6	248	37,7	2372	16411	70,2
05/09/04	198	861	264	166	219	2005	16186	116
07/10/04	57,5	396	18,4	233	101	920	17533	52,5
08/11/04	73,7	487	18,0	1350	72,2	<LOD	17517	33,4
03/01/05	94,7	356	37,0	396	115	946	8123	66,0
IUMA PM <sub>2,5</sub>	Mg	Ni	Pb	Sb	Se	Sr	V	Zn
17/06/04	28,7	7031	7740	668	338	256	17211	11172
19/07/04	29,9	5772	1978	290	131	125	9185	24185
05/09/04	80,3	4888	6646	714	221	2063	9417	13095
07/10/04	87,5	1356	7010	456	588	410	2880	43474
08/11/04	45,4	739	10660	244	<LOD	212	1924	39690
03/01/05	43,2	919	5313	508	<LOD	327	1972	28136
Sabón PM <sub>10</sub>	Al	As	Bi	Ca	Cd	Cr	Cu	Fe
17/06/04	448	2362	89,7	351	150	2415	22298	458
19/07/04	770	1440	49,8	1114	52,0	2630	33020	648
05/09/04	422	1976	174	568	270	3714	60952	794
27/09/04	1243	2330	144	1463	210	8823	80341	1720
07/10/04	158	1704	93,2	720	132	6755	56181	1872
08/11/04	194	1490	119	183	51,7	9929	42364	3310
02/12/04	402	1610	226	896	222	7885	53233	1370
03/01/05	631	1704	102	1385	240	8065	50039	3252

Tabla 8: Continuación tabla Concentración total en ng/m³.

Concentración total (ng/m³)								
Sabón PM <sub>10</sub>	Mg	Ni	Pb	Sb	Se	Sr	V	Zn
17/06/04	180	7149	5427	815	1217	1871	15965	23580
19/07/04	272	4063	1628	798	315	3930	8668	19374
05/09/04	753	9846	8039	1543	1740	5571	14684	47066
27/09/04	418	14182	10277	1944	1345	5835	18850	59526
07/10/04	1193	8662	12063	1162	788	7577	7751	57182
08/11/04	353	12554	6381	850	1290	2282	10177	26074
02/12/04	364	10597	13603	1900	847	3020	11723	89926
03/01/05	196	5466	7798	2816	438	3430	6212	92090
Sabón PM <sub>2,5</sub>	Al	As	Bi	Ca	Cd	Cr	Cu	Fe
17/06/04	119	1680	61,5	243	126	1561	30438	123
19/07/04	176	340	19,3	438	44,3	1891	13900	122
05/09/04	178	1162	149	270	368	2032	47180	315
27/09/04	620	1144	102	689	136	3830	44264	765
07/10/04	80,7	1190	70,0	306	96,7	3051	51602	978
08/11/04	117	1341	120	531	35,8	3851	35160	1563
03/01/05	161	897	42,1	949	183	3725	19052	824
Sabón PM <sub>2,5</sub>	Mg	Ni	Pb	Sb	Se	Sr	V	Zn
17/06/04	54,7	4827	5160	317	863	477	12790	15680
19/07/04	49,4	3018	1564	244	130	678	6214	12865
05/09/04	159	6150	8950	801	952	1106	9585	28580
27/09/04	137	10520	8391	805	637	2171	13550	35481
07/10/04	203	5753	7137	512	515	1372	5205	40163
08/11/04	116	7342	5673	517	959	822	8651	30526
03/01/05	82,1	2920	6110	835	<LOD	1201	3290	67543