



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Desarrollo de un método analítico para la determinación de mercurio atmosférico

Catalina López Mejía

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Minas, Escuela de Geociencias y Medio Ambiente
Medellín, Colombia
2016

Desarrollo de un método analítico para la determinación de mercurio atmosférico

Catalina López Mejía

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

Magíster Medio Ambiente y Desarrollo

Director:

Ingeniero Químico (M.Sc.): Darío de Jesús Gallego Suárez

Codirectora:

Ingeniero Químico (M.Sc.): Ana Marcela Muñoz Díaz

Línea de Investigación:

Contaminación atmosférica

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Minas, Escuela de Geociencias y Medio Ambiente

Medellín, Colombia

2016

Agradecimientos

A mi esposo Julian Antonio Valverde Legarda, gracias por el apoyo y fortaleza que me brindo para terminar mi proyecto. Lo logré por ti.

A mis padres Luz Elena Mejía J. y Omar de Jesús López A. que en el transcurso de mi vida me han ayudado con sus consejos a tomar buenas decisiones y a siempre luchar por lo que se quiere poniendo por encima los valores que no se debe de perder.

A mis hermanos y sobrinos; que siempre me han apoyado y sabido entender durante este paso en la vida.

Msc. Ana Marcela Muñoz Díaz, mi asesora y que en todo momento me apoyo incondicionalmente para que sacara adelante este proyecto, dándome fortaleza y empuje que es lo que a ella siempre la caracteriza.

Msc. Darío de Jesús Gallego Suárez, mi asesor analítico, que me brindó la confianza para que mi proyecto presentará fortalezas y contestará preguntas más allá de lo que yo me imaginara. Profesor gracias por aceptar ser mi asesor.

Al Laboratorio de Higiene y Toxicología industrial de Positiva Compañía de Seguros S.A, gracias por abrirme el espacio para realizar mi proyecto y creer que en el país se puede avanzar en el campo de investigación de seguridad y salud en el trabajo.

A mis compañeros y amigos Bernardo Osorio G. y Mayra Reyes P. del Laboratorio de Higiene y Toxicología industrial de Positiva Compañía de Seguros S.A que siempre están pendiente de mí y que no solo me apoyaron técnicamente, sino moralmente.

Resumen

El mercurio es un contaminante peligroso para el medio ambiente y la salud humana y como la utilización de este compuesto químico ha aumentado en las últimas décadas, sea visto la necesidad de desarrollar nuevos métodos químicos para el análisis de este, ya sea para ambientes generales o laborales.

En la presente investigación se desarrolló y validó un método analítico para la cuantificación de mercurio atmosférico en fase vapor, captado sobre filtros de *hopcalita* y que tiene como ventaja que no necesita pretratamiento de muestra a diferencia del método utilizado por la *National Institute for Occupational Safety and Health* (NIOSH), que utiliza el mismo medio de captación; demostrándose que el método desarrollado puede ser utilizados en ambientes ocupacionales, obteniéndose límites inferiores a los ya establecidos por los diferentes organismo de regulación, superando la técnica aceptada por la *NIOSH* y demostrándose que el país se pueden desarrollar métodos confiables para la cuantificación de este tipo de muestras, sin necesidad de llevarlas a laboratorios acreditados en el exterior.

Un valor agregado del trabajo es que la técnica fue probada en muestras reales, llegando a resultados satisfactorias y que a pesar de que la *hopcalita* ya se encontraba validada para captar mercurio, se demostró por medio de análisis de microscopia electrónica de barrido y espectroscopia de energía dispersiva rayos X, *SEM-EDX* por sus siglas en inglés, que al realizar el análisis del mercurio en el equipo que se utilizó como herramienta *DMA-80* este se desorbe completamente del medio de captación, dándole más confiabilidad al método desarrollado.

Palabras clave: Mercurio, *hopcalita*, validación química, ambiente laboral.

Abstract

Mercury is a dangerous pollutant to the environment and human health. The use of this chemical has increased in recent decades, hence the need to develop new chemical methods for analysis for general or work environments.

In this research it was developed and validated an analytical method for quantification of atmospheric mercury in the vapor phase, captured on filters *hopcalite* without sample pretreatment unlike the method used by the National Institute for Occupational Safety and Health (*NIOSH*), which uses the same means of collection; It is showing that the developed method can be used in occupational environments, obtaining lower limits than those established by the different regulatory agency, overcoming the technical accepted by *NIOSH* and demonstrating that the country can develop reliable methods for quantifying this type of samples, without taking them to laboratories accredited abroad.

The added value of this work is that the technique was tested in real samples, results were satisfactory and that despite the *hopcalite* was already validated to catch mercury was shown by the analysis techniques of scanning electron microscopy (*SEM-EDX*), that the analysis of mercury on the computer that was used as a tool, DMA-80, this is completely desorbed from the middle of the *hopcalite*, giving more reliability to the method developed.

Keywords: Mercury, *hopcalite*, chemical validation, labor and occupational environment.

Contenido

1. Marco teórico.....	5
1.1. Generalidades del mercurio	5
1.2. Mercurio en el medio.....	6
1.2.1. Compuestos de mercurio en el medio ambiente	6
1.2.2. Mercurio Atmosférico.....	7
1.2.3. Ciclo biogeoquímico del mercurio	8
1.3. Toxicidad del mercurio	10
1.4. Tipos de exposición.....	11
1.4.1. Exposición laboral.....	11
1.4.2. Exposición ambiental.....	12
1.5. Desarrollo de un método analítico	13
1.5.1. Descriptores estadísticos clásicos	15
1.5.2. Parámetros de calidad	17
1.5.3. Incertidumbre.....	19
2. Estado del arte.....	23
2.1. Métodos directos (in situ)	24
2.2. Métodos indirectos	25
2.2.1. Métodos que necesitan digestión de muestras	25
2.2.2. Métodos que no necesitan digestión de muestras	27
3. Objetivos.....	36
3.1. Objetivo General	36
3.2. Objetivos específicos	36
4. Metodología.....	37
4.1. Instrumentación.....	38
4.1.1. Analizador de mercurio directo DMA-80	38
4.1.2. Balanza Ohaus Discovery.....	40
4.2. Materiales y reactivos.....	40
4.2.1. Celdas de cuarzo.....	40
4.2.2. Material volumétrico.....	41
4.2.3. Solución patrón de mercurio	42
4.2.4. Ácido nítrico al 65%	42
4.2.5. Agua desionizada	42
4.2.6. Oxígeno.....	42
4.3. Parámetros de muestreo y almacenamiento de muestras.....	42
4.3.1. Parámetros de muestreo	42

4.3.2. Almacenamiento de muestras.....	43
4.4. Parámetros instrumentales	43
4.5. Protocolo de validación	45
4.5.1. Comprobación de la linealidad.....	45
4.5.2. Comprobación de la exactitud.....	48
4.5.3. Sensibilidad	52
4.5.4. Selectividad	54
4.6. Incertidumbre	55
4.6.1. Identificación de las Fuentes de Incertidumbre	55
4.6.2. Incertidumbre para el Reporte Final.....	64
4.6.3. Determinación de la incertidumbre expandida	65
4.7. Técnica alternativa de caracterización textural y composicional de la <i>hopcalita</i> y el mercurio.....	65
4.8. Determinación de la aplicabilidad	66
4.9. Pruebas en muestras reales.....	66
5. Resultados y discusiones	69
5.1. Parámetros experimentales.....	69
5.2. Resultados protocolo de validación	70
5.2.1. Linealidad	70
5.2.2. Exactitud.....	72
5.2.3. Sensibilidad	75
5.2.4. Selectividad	77
5.3. Incertidumbre	78
5.4. Determinación de la aplicabilidad	78
5.5. Verificación textural y estructural de la <i>hopcalita</i> . Análisis desorción del mercurio 80	
5.6. Pruebas en muestras reales.....	84
6. Conclusiones y recomendaciones.....	91
6.1. Conclusiones.....	91
6.2. Recomendaciones.....	92

Lista de figuras

Figura 1.1 Esquema de reacciones del mercurio presente en la atmósfera	7
Figura 1.2 Ciclo biogeoquímico del mercurio	9
Figura 1.3 Fuentes de mercurio antropogénicas	10
Figura 4.1 Esquema desarrollado para validar el nuevo método analítica para análisis de mercurio elemental en fase de vapor	37
Figura 4.2 Esquema del funcionamiento del dma-80 (<i>tomada del catálogo milestone</i>)....	39
Figura 4.3 Partes DMA-80 (<i>tomada del catálogo milestone</i>)	39
Figura 4.4 Celda de cuarzo	41
Figura 4.5 Diagrama de causa y efecto para identificar las fuentes de incertidumbre	56
Figura 5.1 Curvas de calibración celda 1	70
Figura 5.2 <i>Hopcalita blanco de muestreo</i>	81
Figura 5.3 <i>Hopcalita con mercurio</i>	82
Figura 5.4 Hopcalita analizada	82

Lista de tablas

Tabla 1.1 Concentraciones máximas permisibles en medios naturales	12
Tabla 2.1 Límites permisibles de exposición	24
Tabla 2.2 Antecedentes sobre la determinación de Hg atmosférico	29
Tabla 4.1 Especificaciones balanza ohaus	40
Tabla 4.2 Parámetros establecidos por la norma <i>NIOSH 6009</i>	43
Tabla 4.3 Parámetros instrumentales del método	44
Tabla 4.4 Preparación curva de calibración	45
Tabla 4.5 Estándares utilizados en la determinación de la repetibilidad.	49
Tabla 4.6 Estándar de mercurio utilizado en la determinación de la reproducibilidad	49
Tabla 4.7 Estándares utilizados en la veracidad	50
Tabla 4.8 Rangos del porcentaje de recuperación aceptables	51
Tabla 4.9 Estándares utilizados en el límite de detección del equipo	53
Tabla 4.10 Estándares utilizados en el límite de detección del método	54
Tabla 4.11 Concentración de metales utilizadas en la determinación de la selectividad	55
Tabla 5.1 Resultados celda 2	71
Tabla 5.2 Resultados de la determinación de la precisión del sistema	73

Tabla 5.3 Resultados de determinación de la repetibilidad	73
Tabla 5.4 Resultados de la determinación de la precisión intermedia	74
Tabla 5.5 Resultados de la determinación de la precisión intermedia	75
Tabla 5.6 Resultados del límite de detección y cuantificación para la determinación de la mínima concentración detectada por el equipo y el método analítico	76
Tabla 5.7 Resultados de la determinación de la precisión intermedia para el límite de detección del equipo	77
Tabla 5.8 Resultados de la determinación de la precisión intermedia para el límite de detección del método analítico	77
Tabla 5.9 Resultados de la selectividad	78
Tabla 5.10 Densidad suponiendo condiciones estándar	79
Tabla 5.11 Comparación del método analítico desarrollado con el utilizado en la norma <i>NIOSH 6009</i>	80
Tabla 5.12 Resultados de caracterización superficial de las muestras	83
Tabla 5.13 Contenidos de mercurio elemental de las muestras tomadas en el sitio de fabricación de joyas con oro	84
Tabla 5.14 Contenidos de mercurio elemental de las muestras tomadas en la mina de explotación de oro	85
Tabla 5.15 Contenidos aproximados de mercurio elemental de las muestras tomadas en el sitio de fabricación de joyas con oro	86
Tabla 5.16 Contenidos aproximados de mercurio elemental de las muestras tomadas en la mina de explotación de oro.....	86

Introducción

El ciclo biogeoquímico del mercurio se ha visto afectado por las actividades antropogénicas como la quema de carbón y combustibles fósiles, la minería de oro, el tratamiento de residuos que contienen mercurio, producción de cemento y de metales férreos. Todos estos procesos industriales producen emisiones agregadas del mercurio en diferentes formas, ya sea como mercurio metálico, iones orgánicos e inorgánicos, los cuales se acumulan en la atmósfera, la tierra, el agua y en la cadena alimentaria [1].

El mercurio elemental en fase de vapor que es el objeto de interés en este estudio, se presenta en mínimas concentraciones [2] y debido a que los niveles de este contaminante que afectan la salud y el ambiente son muy bajas se ha visto la necesidad de desarrollar nuevos métodos analíticos químicos, confiables, precisos, sencillos y versátiles para su cuantificación.

Pero para tener confianza en el método desarrollado, se debe validar utilizando experimentación química y parámetros estadísticos como la linealidad, la exactitud, la precisión, la reproducibilidad, la repetibilidad, los límites de detección, los límites de cuantificación y la selectividad [3,4] para así establecer su posible campo de aplicación y limitaciones.

En este trabajo se desarrolla un método de análisis utilizando como herramienta el equipo de análisis de mercurio directo, llamado *DMA-80 milestone inc*, en el cual se varía condiciones de análisis de las muestras, como tiempos de secado, tiempos de análisis y tratamiento de las muestras; además el tipo de medio de captación que se utiliza para colectar la muestra de mercurio atmosférico en fase de vapor son filtros de *hopcalita de una sola sección*, los cuales fueron validados y aprobados por la norma *National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) 6009* [5], con metodologías que garantizan la correcta recolección de la muestra.

Aplicando la experimentación adecuada se determinan los parámetros estadísticos, incluyendo la incertidumbre; llegando a la conclusión que el método puede ser aplicado a niveles de ambientes ocupacionales; logrando detectar concentraciones por debajo de los límites que se tienen estipulados por los diferentes organismos reguladores que tienen relación con el control en este tipo de ambientes.

La investigación fue más allá de una validación, realizando pruebas con muestras tomadas a través de filtros de *hopcalita* en ambientes ocupacionales reales, como lo son una mina de explotación de oro y un sitio fabricación de joyas de oro (no se hace mención a los nombres por compromisos de confidencialidad), donde se utiliza el mercurio para recuperación y purificación del metal precioso, sin ningún tipo de control de seguridad que ayude a evitar en el futuro posibles afectaciones en la salud de los trabajadores, el medio ambiente y la comunidad en general. Comprobándose además por técnicas espectroscópicas texturales - composicionales y por validación misma con el equipo *DMA-80* que la *hopcalita* es el material de muestreo idóneo para la captación de mercurio.

Al realizar la prueba con el método desarrollado, se detectaron altas concentraciones de mercurio en fase de vapor en todas las muestras analizadas, excepto en los blancos de muestreo donde los resultados fueron no detectables, tal como se esperaba y como se demuestra en el análisis microscópico.

Actualmente en Colombia no existen técnicas desarrolladas y validadas para el análisis químico de mercurio atmosférico en fase de vapor captado en filtros de *hopcalita*, lo cual constituye otro valor agregado de esta investigación, ya que el estudio de contaminantes ambientales en áreas ocupacionales es casi inexistente en el país y si se requiere realizar este tipo de mediciones se deben enviar muestras a laboratorios certificados, que utilizan el método *NIOSH 6009*, además de que se incurre en costos y tiempos de transportes muy elevados, aumentando el riesgo de contaminación y pérdidas de las mismas. Por lo que al utilizar esta nueva metodología, se constituirá en un gran apoyo para el avance de la investigación ocupacional de este contaminante en Colombia y países vecinos.

En el primer capítulo de este trabajo se muestra el marco teórico y el estado del arte, el segundo capítulo habla de los instrumentos, materiales y métodos utilizados. Posteriormente, se muestran los resultados y discusiones de la investigación y finalmente

se presentan las conclusiones y recomendaciones a las que se llegaron con esta pesquisa.

Bibliografía

- [1]. G. Drasch, M. Horvat, M Stoeppler. Elements and their compounds in the Environment (Volume 2). Editores: Merian E, Anke M, Ihnat M, Stoeppler M. Ed. Wiley-VCH, Alemania, (2004) 931-1005.
- [2]. T. Syversen, P. Kaur, The toxicology of mercury and its compounds. Journal of trace Elements in Medicine and Biology 26 (2012). 215-226.
- [3]. D. Ahumada Forigua. I. González Cárdenas. A. Peralta Bohórquez. Validación de métodos en análisis químico-cuantitativo. Instituto Nacional de Metrología. Colombia (2014).
- [4]. JCGM 100. Evaluation of measurement data — Guide to the expression of uncertainty in measurement. (2008).
- [5]. NIOSH Manual of Analytical Methods, 4ta. ed., Method 6009. (1994)

1. Marco teórico

En este capítulo se describen las principales propiedades que caracterizan al mercurio como un contaminante ambiental altamente peligroso, se muestra el analito de interés en este estudio, el cual es el mercurio atmosférico elemental y los métodos más utilizados para su análisis, además de los parámetros estadísticos que se utilizan para validar un método analítico.

1.1. Generalidades del mercurio

El uso del mercurio se remonta desde tiempos antiguos cuando uno de sus minerales más importantes el cinabrio (HgS) se utilizaba como pigmento natural para la preparación de cosméticos y medicamentos por los egipcios, griegos y romanos [1,2]. En 700 A.C, ya se utilizaba para la extracción y purificación de metales como el oro y así fue su uso hasta aproximadamente el siglo XV [1].

A partir del siglo XVI su uso fue más frecuente, como por ejemplo, tratamiento de la sífilis, usos en el barómetro y el termómetro [1].

El mercurio es el único metal de transición que a temperatura ambiente es un líquido de color plateado y con densidad alta, $13,53 \text{ g/cm}^3$ [3]. Una de sus principales aplicaciones es en los procesos de extracción de metales preciosos, como son la plata y el oro, por medio de la amalgamación; también se utilizan como empastes dentales y aprovechando que su coeficiente de dilatación es prácticamente constante se utiliza para la fabricación de termómetros.

Este contaminante es liberado de procesos industriales como lo son; la quema de carbón, combustibles fósiles, la minería de oro, tratamiento de residuos que contienen mercurio, producción de cemento y producción de metales férreos [4].

Existen diferentes tipos de especies en las que se encuentra distribuido el mercurio en el medio ambiente y las más importantes son: el mercurio metálico, iones inorgánicos y orgánicos y cada uno de ellos presenta propiedades toxicológicas diferentes; por ejemplo la exposición a mercurio metálico e inorgánico puede dañar permanente el cerebro, los riñones y el feto en desarrollo, además puede producir desordenes en el sistema nervioso, pérdida de la memoria, temblores y efectos en la tiroides [5]. En cuanto a las especies orgánicas, como el metilmercurio, producen graves daño en el cerebro en formación y efectos perjudiciales en el sistema cardiovascular [5].

Debido al uso indiscriminado e irresponsable del mercurio este se clasifica como uno de los compuestos químicos más peligrosos para el medio ambiente y la salud humana y por ello se ha visto la necesidad de desarrollar métodos analíticos que permita determinar la concentración de este metal en todas sus fases.

1.2. Mercurio en el medio

1.2.1. Compuestos de mercurio en el medio ambiente

El mercurio se encuentra presente en el medio ambiente como compuestos líquidos, sólidos y gaseosos.

El mercurio en la atmósfera, se encuentra en primer lugar como vapor de mercurio elemental (Hg^0), analito de interés en este estudio con tiempos de residencia de aproximadamente un año, además posee una solubilidad en agua aproximadamente 60 $\mu\text{g/l}$ a 25°C y en segundo lugar se encuentra como mercurio divalente u oxidado (Hg^{2+}), el cual se deposita más rápido en el suelo, comparado con el elemental [6].

Después de que el mercurio elemental y divalente se deposita en el suelo, estos sufren una serie de interacciones que pueden formar otros tipos de compuestos de acuerdo a las propiedades fisicoquímicas del suelo en el que se deposita. En su mayoría se forman compuestos inorgánicos como el cloruro de mercurio (HgCl_2), el hidróxido de mercurio ($\text{Hg}(\text{OH})_2$) y compuestos orgánicos de alta toxicidad y capacidad de bio-acumulación; como el metil-mercurio que se forma por procesos microbianos, aunque en cantidades muy pequeñas [7,8]. El mercurio en todas sus especies químicas, permanece acumulado en el suelo por largos periodos de tiempo y se va liberando muy lentamente en las aguas superficiales [7].

Además de todas las especies de mercurio que se liberan de los suelos, depositándose en el agua, también pueden entrar a este medio directamente desde la atmósfera en formas inorgánicas del ion (Hg^{2+}) y sus complejos y si hablamos de los compuestos orgánicos, como el metil-mercurio que representa el 5% del mercurio total presente en medios acuíferos, se introduce por medio de precipitaciones y este porcentaje puede aumentar en zonas altamente industrializadas y con condiciones anaerobias [9].

De los diferentes medios naturales que se describieron anteriormente, el de interés en esta investigación es el atmosférico, ya que se constituye en el principal vehículo de entrada de este contaminante al ambiente.

1.2.2. Mercurio Atmosférico

La especie de mercurio que predomina en la atmósfera es el mercurio elemental (Hg^0) en fase de vapor (>53%), el cual se caracteriza por su estabilidad en este medio [10,11], también se presenta como mercurio iónico (Hg^{2+}) y mercurio en forma de partícula Hg_p . [6].

El mercurio elemental en fase de vapor, de interés en este estudio, en medio húmedo y en presencia de ozono, sufre un proceso de oxidación, formándose Hg^{2+} , que puede precipitarse o sufrir un proceso de reducción por los sulfitos presentes en la atmósfera para convertirse de nuevo a mercurio elemental [12,13]. La figura 1.1 esquematiza el proceso de las reacciones del mercurio en la atmósfera.

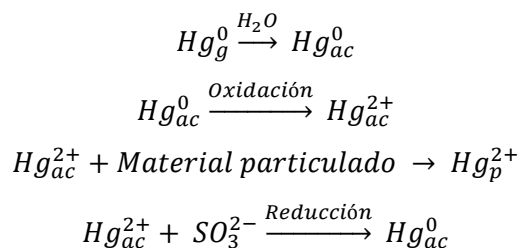


Figura 1.1. Esquema de reacciones del mercurio presente en la atmósfera

El mercurio es liberado a la atmosfera, ya sea de forma natural, por reemisiones o de forma antropogénica y en esta última se pueden establecer diferentes categorías:

1. Liberado de forma no intencionada, como por ejemplo la quema de combustibles fósiles [18].
2. Liberado de forma intencionada, como por ejemplo la minería de oro artesanal [18].
3. La reemisión del mercurio por diferentes interacciones que convierten al mercurio en vapor de mercurio, el cual tiene una movilidad más alta en la atmósfera [18].

Toda esta concentración de mercurio en la atmósfera, por las diferentes reacciones que se presenten, hace que entren a otros medios naturales, donde se formarán nuevas especies y de ahí la importancia de la cuantificación de mercurio atmosférico por métodos analíticos validados y confiables, ya que el punto de partida se puede tomar desde el aire.

1.2.3. Ciclo biogeoquímico del mercurio

El mercurio en sus diferentes especies tiene un flujo continuo en el medio ambiente, este se distribuye en el agua, aire, suelos y animales y a través de todos estos procesos se da diferentes tipos de reacciones químicas como reacciones de óxido – reducción, que ocurren en la atmósfera por medio de la reacción con ozono para formar iones inorgánicos [15] o en ambientes acuíferos donde ocurre la reducción del mercurio inorgánico al mercurio metálico, por medio de microorganismos, como las cianobacterias [16,17]. Otro tipo de reacciones que pueden ocurrir en el ciclo biogeoquímico son de metilación – demetilación y los ejemplos más importantes que existen son la formación del monometilmercurio y dimetilmercurio en aguas y suelos, por la transformación bacteriana *in situ* de las especies inorgánicas a especies orgánicas.

La movilidad de todas estas especies es alta y en la figura 1.2 se ilustra las diferentes formas en las que se produce este contaminante.

De forma natural, como por ejemplo por la erosión de volcanes terrestres y marinos, los cuales representan aproximadamente el 10% de mercurio que se emiten a la atmósfera [18].

Se conoce que el aporte de forma antropogénico por procesos, como la minería artesanal y a pequeña escala para la extracción de oro, libera aproximadamente el 30% de las emisiones anuales de este contaminante a nivel mundial hacia la atmósfera [19].

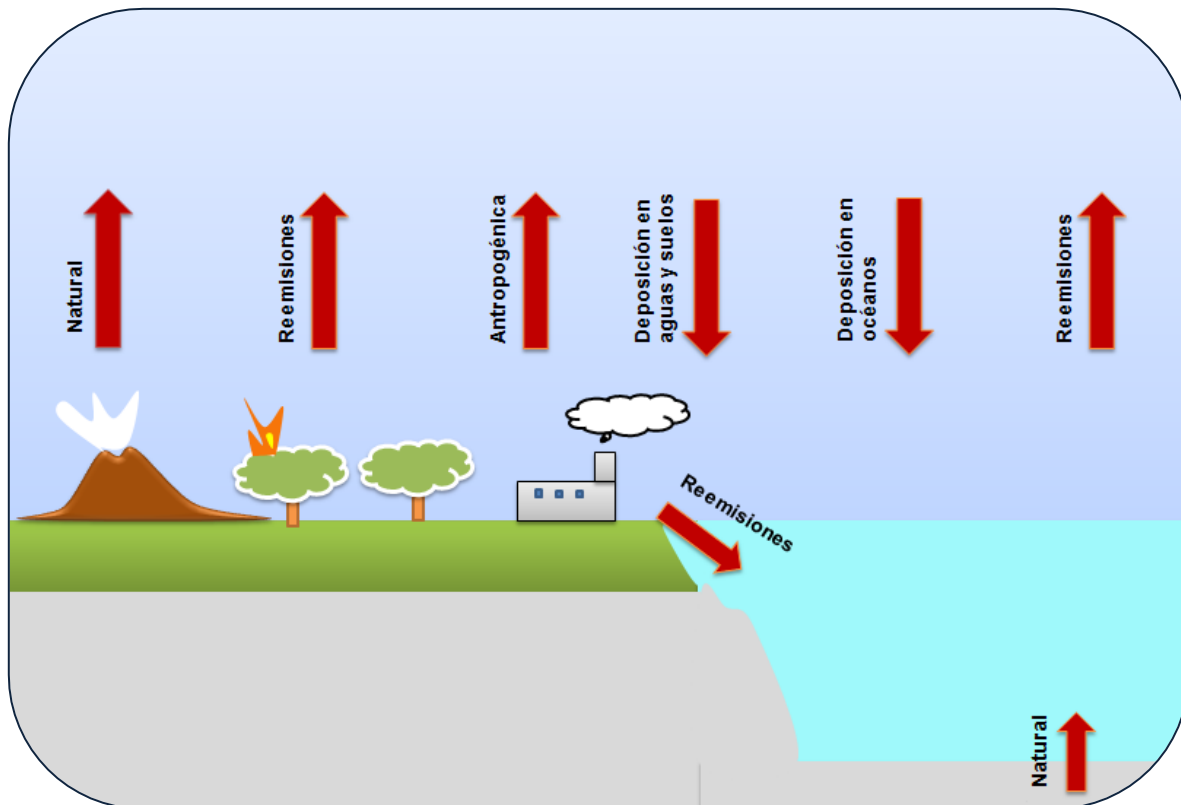


Figura 1.2. Ciclo Biogeoquímico del Mercurio [18]

Otras fuentes antropogénicas de liberación de mercurio y que llegan a la atmósfera como mercurio elemental en forma de vapor, para posteriormente reaccionar con el ozono y así seguir con el ciclo biogeoquímico del mercurio son las impurezas presentes en los combustibles, la producción de metales férricos y no férricos, refinado del petróleo crudo, producción de soda cáustica y cloro, tratamiento de residuos de productos que contenían mercurio (baterías, dispositivos electrónicos, pesticidas, etc.) y la producción de cemento, la cual se realiza por quema de combustibles fósiles [18]. En la figura 1.3 se esquematiza los porcentajes de los diferentes procesos antropogénicos que liberan mercurio al medio ambiente.

Por reemisión de los suelos, vegetación y quema de biomasa, se produce aproximadamente el 60% del mercurio que se está movilizando en el ciclo de este contaminante tan perjudicial para el medio ambiente [18].

Finalmente se puede decir que de ahí el interés de cuantificar el mercurio en fase de vapor, por que como se dijo anteriormente es la base de partida para el ciclo biogeoquímico del mercurio.

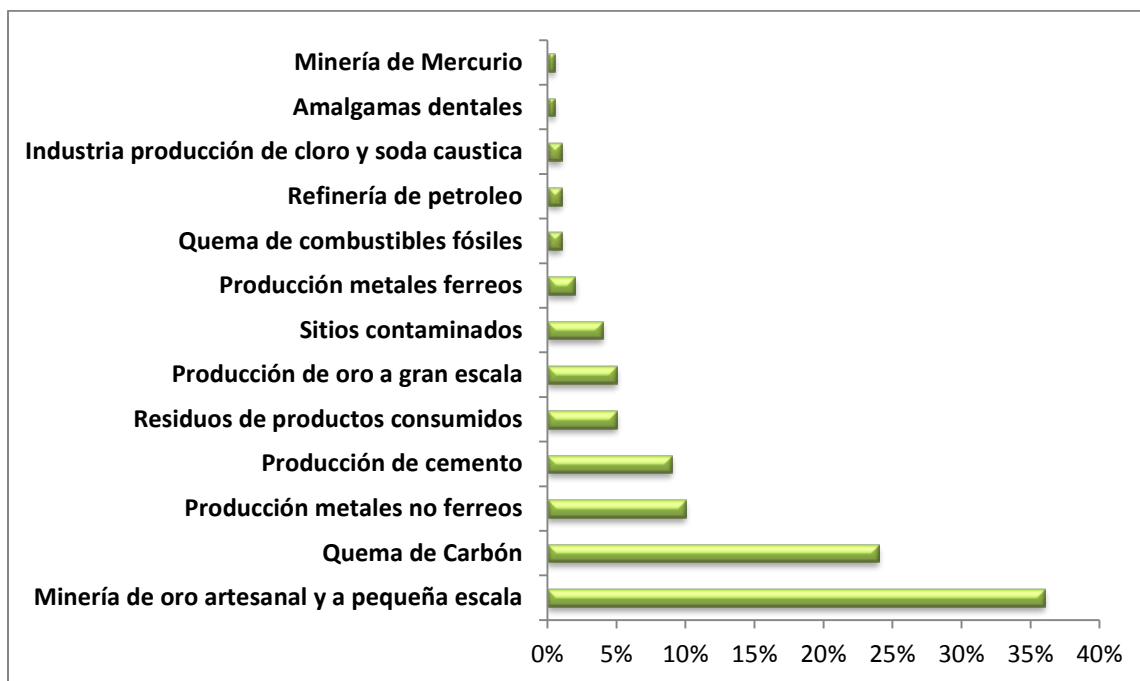


Figura 1.3. Fuentes de mercurio antropogénicas [8]

1.3. Toxicidad del mercurio

El riesgo laboral por exposición a mercurio, se conoce desde el año 370 A.C, cuando se observaron ciertos síntomas que se manifestaban en los esclavos que trabajaban en las minas de mercurio.

Después se hizo popular el uso del nitrato de mercurio para ablandar los pelos de animales para la fabricación de sombreros; por lo que en este tipo de artesanos se reflejaban síntomas por exposición a mercurio [20].

En los siglos XIX y XX, el mercurio ya era utilizado en diferentes procesos industriales, aumentando su acumulación ambiental, principalmente en la atmósfera y con ello aparecieron enfermedades e intoxicaciones masivas relacionadas con la exposición a este tipo de compuesto químico contaminante [20].

Todos estos acontecimientos llevaron a que la comunidad internacional se preocupara por la alta peligrosidad del mercurio y que se desarrollaran conferencias exclusivamente dedicadas a este contaminante que buscaran soluciones y concientizaran a las personas de los graves daños que trae estar expuesto a este compuesto químico.

La más reconocida es la conferencia “*Mercury as a Global Pollutant*”, la cual tuvo su versión número doce en Junio de 2015 en Corea, donde se trataron temas tan importantes, como avances en metodologías analíticas para análisis de mercurio en matrices ambientales [21].

La principal especie liberada al medio ambiente es el mercurio elemental en fase de vapor y su vía de entrada es la respiratoria. Aproximadamente el 80% del mercurio inhalado es retenido por el organismo distribuyéndose rápidamente por el torrente sanguíneo a los riñones y al cerebro. La mayor parte se excreta por la orina, la sudoración, el aire exhalado y las heces; si se tienen una exposición prolongada, puede producir temblores, pérdida de memoria y delirio [22].

1.4. Tipos de exposición

1.4.1. Exposición laboral

La principal ruta de exposición laboral es vía respiratoria y esto se da por el vapor de mercurio elemental que se produce en los puestos de trabajo. En todos los procesos industriales como por ejemplo producción de cloro y soda cáustica, manejo de residuos de mercurio, extracción de oro, clínicas dentales, etc y que incluyan manipulación de compuestos de mercurio, están expuestos ocupacionalmente al contaminante y se deben de tomar las medidas de protección adecuadas para evitar problemas crónicos o agudos a los trabajadores de la empresa [9,23].

En los últimos años se han mejorado los controles como encerramiento, mejor ventilación, mejores sistemas de extracción y uso adecuado de los elementos de protección personal; pero esto sucede solo en empresas que se están constituidas legalmente, ya cuando se habla de minería artesanal y de pequeña escala no existe un tipo de control en ninguno de los países suramericanos, donde se desarrolla este tipo de minería (Perú, Colombia, Ecuador y Chile), dejando de ser no solo un problema de exposición laboral, sino también un problema de contaminación ambiental y salud pública[19].

Para comprobar los niveles biológicos de mercurio, se realizan análisis del contaminante en orina y sangre. Para el caso por ejemplo de la orina la concentración de mercurio inorgánico total, no puede exceder los 20µg Hg/g de creatinina, el cual es el valor de exposición biológico “*Biological Exposure Indices (BEI)*” fijado por el organismo de control

“*American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH)*”. En caso de que se exceda el límite el trabajador debe ser alejado del puesto de trabajo y empezar tratamiento médico [24].

En el caso de ambientes ocupacionales la *ACGIH*, fijo un límite superior de control “*Threshold Limit Value (TLV)*” de 0.025 mg/m^3 , para mercurio elemental, que en caso de ser superado, inclusive puede llevar al cierre de la empresa, hasta que no se realicen los controles suficientes [24].

1.4.2. Exposición ambiental

La organización mundial de la salud (OMS) y la agencia americana de protección ambiental “*Environmental Protection Agency (EPA)*”, establecen diferentes concentraciones máximas permisibles de mercurio en sus diferentes especies en los medios naturales.

En la tabla 1.1 se muestran las concentraciones máximas permisibles aceptada por estos dos organismos de control para mercurio en la atmósfera y como se observa aún no existe consenso de los valores límites permisibles; es decir, no existe una legislación común para la regulación de contenido de mercurio en el medio ambiente. En el caso de Colombia, los límites permisibles que se utilizan como referencia son los ya fijados por estos organismos de control internacional.

Tabla 1.1. Concentraciones máximas permisibles en medios naturales

Medios naturales	EPA (Límites Permisibles)	OMS (Límites Permisibles)
Atmósfera	$0.3 \mu\text{g/m}^3$ Concentración de inhalación de referencia (RfC) [25]	$(80 \mu\text{g/m}^3 \text{ en el aire})$ [26]

En cuanto a los límites admisibles de mercurio a niveles biológicos en personas que no están expuestas al contaminante, la organización mundial de la salud (OMS) y “*United Nations Environment Programme (UNEP)*”, establecen valores de $10 \mu\text{g/l}$ y $20 \mu\text{g/l}$ en orina respectivamente [25]; sin embargo niveles de mercurio en orina superiores a los rangos

establecidos, no necesariamente implican problemas de salud, ya que depende de las características de cada individuo.

1.5. Desarrollo de un método analítico

Las emisiones atmosféricas agregadas por actividades humanas (antropogénicas), han acelerado el ciclo del mercurio encontrándose cada vez más acumulación de este compuesto, principalmente en su forma elemental, es decir, en fase de vapor Hg^0 (90%) [26]. Por esto la determinación de la cantidad de mercurio elemental es un punto muy importante y el desarrollo de nuevos métodos analíticos es una preocupación constante de los investigadores, para lograr encontrar una técnica confiable, precisa, sencilla y versátil [27].

Las técnicas más utilizadas a nivel mundial para la determinación de mercurio son las técnicas atómicas; como la espectroscopía de fluorescencia atómica con vapor frío (CV-AFS) [28], el cual consiste en reducir el mercurio a mercurio elemental con reductores tales como cloruro de estaño (II) o borohidruro sódico luego se utiliza un gas de arrastre inerte para así transportarlo al detector y medir la señal de fluorescencia a una longitud de onda de 253,7 nm [22]. En la espectroscopía de absorción atómica con vapor frío (CV-AAS), no se necesita de atomización de la muestras, pero maneja el mismo fundamento teórico que la espectroscopía de fluorescencia atómica (CV-AFS) y se constituye en un análisis sencillo, económico y fiable para la determinación de mercurio, aunque el primero es más utilizado por su alto rango de linealidad, es decir se puede leer concentraciones más altas sin tener que realizar dilución de la muestra [12].

El plasma acoplado por inducción unido a un espectrómetro de masas (ICP-MS), es otra técnica muy utilizada, la cual consiste en tres tubos de cuarzo por donde fluye argón; la ionización del argón interactúa con el campo magnético y esto hace que los electrones y los iones se muevan y puedan ser cuantificados [29]. Una técnica muy novedosa es la espectrometría de masas con dilución isotópica (IDMS), la cual es utilizada para analizar mercurio orgánico y tiene como ventaja la minimización de la incertidumbre [22].

La preparación de las muestras se constituye en el punto más crítico a la hora de determinar la cantidad de mercurio depositado allí y en esta investigación se tiene como ventaja que la muestra no necesitan pretratamiento de muestras, evitando pérdida o

contaminación cruzada de esta, tal como se mencionó en la introducción. Para este tipo de análisis donde no se necesita pretratamiento de muestra, se han desarrollado técnicas analíticas, como lo son el análisis por activación neutrónica (INAA), la cual es una técnica muy sensible. Otra técnica que entra en esta categoría es la fluorescencia de rayos X, la cual es un método *in situ* [29].

Las técnicas electroquímicas, las cuales son *in situ* también, utilizan electrodos en su mayoría de oro por su alta afinidad con el mercurio para determinar la concentración de este contaminante en el ambiente, pero esto a su vez se constituye en una desventaja, ya que la limpieza de la superficie de oro debe de ser muy cuidadosa para posteriores análisis y así evitar contaminaciones cruzadas [29].

Técnicas más actuales que utilizan analizadores portables para realizar también análisis *in situ*, tales como el Lumex RA 915+ que emplea la técnica de espectrometría de absorción atómica diferencial, que se implementa utilizando el efecto Zeeman [18].

Los medios de captación también son importantes y dependiendo de éste se debe de validar experimentalmente el método analítico que se desarrolla, un ejemplo claro es el medio de captación que se utiliza en este trabajo los cuales son *tubos de hopcalita de una sola sección*, que presentan un método analítico de análisis químico validada y aceptada por la norma *National Institute for Occupational Safety and Health* (NIOSH) 6009, la cual se basa en la espectroscopía de absorción atómica con vapor frío (CV-AAS) y necesita pretratamiento de muestra [30], a diferencia de la método desarrollo en este trabajo de investigación.

Para lograr que un método analítico sea establecido para su utilización en un campo en particular se debe de realizar una validación del método con pruebas experimentales de diferentes variables estadísticas que posteriormente deben de cumplir con ciertos protocolos que ayudan a demostrar que la técnica puede ser utilizada para un fin específico [27, 31].

La herramienta que se utiliza para realizar este proceso son los descriptores estadísticos clásicos, los cuales son la base para calcular cada uno de los parámetros estadísticos que se van a evaluar, incluyendo la incertidumbre [27].

1.5.1.Descriptores estadísticos clásicos

- Media aritmética (\bar{X})

Es la cantidad total de la variable (muestra o medida) distribuida a partes iguales entre cada observación. En términos matemáticos, es igual a la suma de todos sus valores dividida entre el número de sumandos [32, 33]. Ver ecuación 1.

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad \text{Ec. 1}$$

Donde:

x_i = Valor de una lectura

n = número de lectura

- Desviación estándar (s)

Ecuación 2. Es el promedio de lejanía de los valores obtenidos (lecturas) respecto del promedio [33].

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{X})^2}{n - 1}} \quad \text{Ec. 2}$$

Donde:

x_i = Valor de una lectura

\bar{X} = Promedio de la totalidad de lecturas

n = número de lecturas

- Varianza (s²)

Es una medida de dispersión definida como el cuadrado de la desviación estándar [33].

Ecuación 3

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{X})^2}{n - 1} \quad \text{Ec. 3}$$

- Desviación estándar relativa o coeficiente de variación (%RSD)

Es una medida de dispersión que permite comparar dispersiones a escalas distintas [33], cuyas unidades se expresan en porcentaje (ver ecuación 4).

$$\%RSD = \frac{s}{\bar{X}} * 100 \quad \text{Ec. 4}$$

- Intervalo de confianza de la media (μ)

Tal como lo muestra la ecuación 5, indica en qué intervalo podemos decir que está incluido el valor verdadero, para un grado de confianza dado [23].

$$\mu = \bar{X} \pm t \left(\frac{s}{\sqrt{n}} \right) \quad \text{Ec. 5}$$

Donde:

\bar{X} = Promedio de la totalidad de lecturas

n = número de lecturas

t = valor t – student

- Coeficiente de Variación de Horwitz (CVh)

Es el coeficiente de variación definido por W. Horwitz, a través de la ecuación obtenida de un estudio estadístico real en el cual se reunieron 150 datos de ensayos de interlaboratorios (ecuación 6), se observó que el coeficiente de variación de los valores medios dados por los diferentes laboratorios aumentaban a medida que disminuía la concentración del analito [15].

$$CV_h = 2^{(1-0.5\log C)} \quad \text{Ec. 6}$$

Donde:

C = Concentración del analito expresado en potencia de 10

- Prueba t-student

Se utiliza esta prueba cuando el número de muestras es inferior a 30. En la prueba t, se procede a determinar el valor t de student calculado y este valor posteriormente se compara con el valor crítico, el cual se obtiene de la tabla de t-student para un determinado porcentaje de confiabilidad (normalmente se utiliza el 95% de confianza, es

decir, un valor α de 0,05). Si no existen diferencias significativas entre 2 grupos, la t calculada debería ser inferior al t crítico [27].

- Análisis de Varianza (ANOVA)

El análisis de varianza (ANOVA, por sus siglas en inglés) sirve para comparar dos o más grupos de una variable cuantitativa. Es una prueba que está compuesta por diferentes modelos estadísticos en los cuales la varianza se descompone en ciertos aportes debidos a diferentes variables explicativas. Esta técnica es a veces nombrada como ANOVA de Fisher, debido al uso de la distribución F como parte del contraste de hipótesis [27].

1.5.2. Parámetros de calidad

- Linealidad

La linealidad es una propiedad importante de los métodos utilizados para efectuar mediciones en un intervalo de concentraciones. La linealidad generalmente no es cuantificada pero es comprobada mediante inspección o utilizando pruebas de significancia [31].

Para comprobar la linealidad, se debe de cumplir la ley de Beer en la concentración del punto máximo de la curva. “La ley de Beer solo se cumple en soluciones diluidas, a concentraciones del orden de 10^{-2} M, por encima de este valor la recta se curva debido a que a medida que aumenta la concentración de especies absorbentes, estas se van aproximando entre ellas hasta que se pone en marcha las interacciones electrostáticas, alterando la capacidad de las especies a absorber a unas determinadas longitudes de onda [32]”.

- Exactitud

La exactitud se define según el vocabulario internacional de metrología como la proximidad entre un valor medido y un valor verdadero de un mensurando [33].

La exactitud se evalúa encontrando los errores sistemáticos y aleatorios de los resultados, por medio de la precisión como repetibilidad, precisión intermedia y la veracidad [34].

La precisión como repetibilidad hace referencia a las condiciones bajo las cuales se evalúa la dispersión, por ejemplo, condiciones donde los resultados de ensayos

independientes son obtenidos con el mismo método sobre muestras de ensayo idénticas, en el mismo laboratorio, por el mismo operador, utilizando el mismo equipo dentro de intervalos de tiempo cortos [33].

La precisión intermedia evalúa la dispersión de resultados entre ensayos mutuamente independientes utilizando el mismo método aplicado a la misma muestra, en el mismo laboratorio bajo diferentes condiciones: distintos operadores, diferente equipamiento o distintos días [34].

La veracidad se refiere al grado de concordancia entre la media aritmética de un gran número de resultados medidos y el valor de referencia verdadero [35].

- Sensibilidad

Es una medida del factor de respuesta del instrumento como una función de la concentración.

La sensibilidad está determinada por el factor de sensibilidad, el límite de detección y el límite de cuantificación y el cálculo se realiza bajo el método *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC) [34].

El límite de detección define como, “valor medido, obtenido mediante un procedimiento de medición dado, con una probabilidad β de declarar erróneamente la ausencia de un constituyente en un material, dada una probabilidad α de declarar erróneamente su presencia” [36] y en cuanto al límite de cuantificación es la concentración más baja que se puede determinar por un método analítico de forma reproducible, con criterios de exactitud y precisión conocidos [36].

- Selectividad

Se define la selectividad como la “propiedad de un sistema de medición, empleando un procedimiento de medición especificado, por la que el sistema proporciona valores medidos para uno o varios mensurandos, de modo que los valores de cada mensurando son independientes entre sí o de otras magnitudes existentes en el fenómeno, cuerpo o sustancia en estudio” [36].

La IUPAC avala el uso de selectividad y no de especificidad, ya que a finales de los años noventa fueron unificados los términos quimioselectividad y quimioespecificidad al de

quimioselectividad. La razón técnica de la fusión de los términos, se encuentra en que no hay evidencia de que una reacción sea completamente específica a un compuesto [34].

1.5.3. Incertidumbre

La incertidumbre de una medición es el parámetro asociado al resultado, es decir, caracteriza la dispersión de los valores que razonablemente pueden ser atribuidos al mesurando [37,38].

Existen dos métodos básicos para cuantificar la incertidumbre asociada a una medición, éstos son: el método de evaluación tipo A, basado en un análisis estadístico de una serie de mediciones; mientras que el método de evaluación tipo B comprende todas las demás maneras de estimar la incertidumbre [38].

Generalmente para el análisis de las fuentes de incertidumbre se utiliza el diagrama de espina de pescado u otro tipo de diseño esquemático que permita con facilidad identificar las fuentes de incertidumbre presentes durante el proceso analítico, como por ejemplo; incertidumbre de la determinación de la masa, incertidumbre de la concentración leída, incertidumbre de recuperación, que finalmente se tienen en cuenta para calcular la incertidumbre expandida [38].

Bibliografía

- [1]. Arribas, S. La fascinante historia de la Alquimia descrita por un científico moderno. Oviedo: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Oviedo, 1991.
- [2]. Moreno Grau, M. D. Toxicología ambiental: evaluación de riesgo para la salud humana. Madrid: Ed. Mc Graw Hill, 2003.
- [3]. C.E Housecraft, A.G Sharpe. Química Inorgánica, 2.^a ed: Pearson Prentice Hall. (2006).
- [4]. J.E. Sánchez Uría, A. Sanz-Medel. Inorganic and methylmercury speciation in environmental samples. *Talanta*. Vol. 47 (1998)509-524.
- [5]. T. Syversen, P. Kaur, The toxicology of mercury and its compounds. *Journal of trace Elements in Medicine and Biology* 26 (2012). 215-226.
- [6]. Petersen, G., Iverfeldt, Å., Munthe, J. Atmospheric mercury species over central and Northern Europe. Model calculations and nordic air and precipitation network for 1987 and 1988. *Atmospheric Environment*. 1995, Vol. 29, p. 47-67.
- [7]. Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA): Productos Químicos. Evaluación mundial sobre el mercurio. Programa Interorganismos para la Gestión Racional de las Sustancias Químicas. <http://www.chem.unep.ch/mercury>. 2002
- [8]. Schuster, E. The behavior of mercury in the soil with special emphasis on complexation and absorption processes: a review of the literature. *Water, Air and Soil Pollution*. 1991, Vol. 56, p. 667-680.
- [9]. United States Department of Health and Human Services. Toxicological profile for mercury. Agency for toxic substances and disease registry. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp46.pdf>. 1999.
- [10]. Fitzgerald, W.F. Global biogeochemical cycling of mercury. Bethesda: Reunión de la DOE/FDA/EPA sobre metilmercurio y salud, 1996.

- [11]. Schroeder, W.H., Yarwood, G., Niki, H. Transformation processes involving mercury species in the atmosphere. *Water, Air and Soil Pollution*. 1991, Vol. 56, p. 653-666.
- [12]. G. Drasch, M. Horvat, M Stoepler. Elements and their compounds in the Environment (Volume 2). Editores: Merian E, Anke M, Ihnat M, Stoepler M. Ed. Wiley-VCH, Alemania, (2004) 931-1005
- [13]. G. Liu, N. O'Driscoll (Environmental Chemistry and Toxicology of Mercury. Ed. Wiley-VCH, EEUU.(2012).
- [14]. Munthe, J. The aqueous oxidation of elemental mercury by ozone. *Atmospheric Environment*.1992, Vol. 26A, p. 1461-1468.
- [15]. Weber, J.H. Volatile hydride and methyl compounds of selected elements formed in the marine environment. *Marine Chemistry*.1999, Vol. 65, p. 67-75.
- [16]. Nascimento, A.M.A., Chartone-Souza, E. Operon mer: bacterial resistance to mercury and potential for bioremediation of contaminated environments. *Genetics and Molecular Research*.2003, Vol. 2(1), p. 92-101.
- [17]. UNEP, Global Mercury Assessment. Sources, Emissions, Releases and Environmental Transport. UNEP Chemical Branch, Geneva, Switzerland. (2013).
- [18]. P. Cordy, M. Veiga, B. Crawford, O. Garcia, V. Gonzalez, D. Moraga, M. Roeser, D. Wip (Characterization, mapping, and mitigation of mercury vapour emissions from artisanal mining gold shops. (2013) *Environmental Research* 125 (2013) 82–91.
- [19]. El mercurio como contaminante global. Desarrollo de metodologías para su determinación en suelos contaminados y estrategias para la reducción de su liberación al medio ambiente .Xavier Ganoa Martinez. Universidad Autonoma de Barcelona (2004)
- [20]. <http://mercury2015.com/> 17 de Octubre de 2015.
- [21]. Syversen, T., Kaur, P; (2012). The toxicology of Mercury and its Compounds. *Journal of Trace Elements in Medicinal and Biology* 26. 215-226.
- [22]. M. Jiménez moreno. Desarrollo de métodos analíticos para especiación de mercurio y su aplicación a la comarca de Almadén. (2008).
- [23]. 2015 TLVs and BEIs. ACGIH
- [24]. Occupational Safety & Health Administration. United States Department of Labor. Actualizado: 12 Noviembre 2012. [Fecha de consulta 29 agosto 2015]. Disponible en: https://www.osha.gov/dts/chemicalsampling/data/CH_250510.html<http://water.epa.gov/drink/agua/estandares.cfm>

- [25]. Mercurio Evaluación de la carga de morbilidad ambiental a nivel nacional y local. Jessie Poulin Herman Gibb Editora Annette Prüss-Üstün. Pag. 9.
- [26]. Bottled Water Code of Practice Revised October, 2007 Effective January 1, 2008 International Bottled Water <http://www.bottledwater.org>. pag 18
- [27]. D. Ahumada Forigua. I. González Cárdenas. A. Peralta Bohórquez. Validación de métodos en análisis químico cuantitativo. Instituto Nacional de Metrología. Colombia (2014).
- [28]. J.J Berzas Nevado , R.C. Rodriguez Martin – Doimeadios, F.J . Guzman Bernardo, M. Gimenez Moreno, Determination of monomethylmercury in low- and high – polluted sediments by microwave extraction gas chromatography with atomic fluorescence detection, *Anal. Chim. Acta* 608 (2008) 75-83.
- [29]. E. Bernalte. Desarrollo y aplicabilidad de metodologías analíticas para la evaluación de contaminantes ambientales de especial peligrosidad: Hidrocarburos aromáticos policíclicos y mercurio. Tesis doctoral Universidad de Extremadura, España. (2013).
- [30]. NIOSH Manual of Analytical Methods, 4ta. ed., Method 6009. (1994)
- [31]. Eurachem/ Citac. 1998. Guide The fitness for purpose of analytical methods. A laboratory guide to method validation and related topics.
- [32]. D.A. Skoog. F.J. Holler. S.R. Crouch, Principios de *Análisis Instrumental*. Sexta Edición (2008) 325.
- [33]. ISO 3534-1: 2006. Statistics — Vocabulary and symbols — Part 1: Probability and general statistical terms. ISO International Organization for Standardization.
- [34]. IUPAC. Harmonized Guidelines for Single Laboratory Validation of Methods of Analysis. *Pure Appl. Chem.*, Vol. 74 (2002) 835–855.
- [35]. ISO 5725–1. General principles and definitions. ISO International Organization for Standardization. (1994).
- [36]. BIPM. 2012. International vocabulary of metrology — Basic and general concepts and associated terms. JCGM 200:2012. BIPM Bureau International des Poids et Mesures.
- [37]. Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición. “Aspectos generales sobre la validación de métodos” Pag 11. Instituto de Salud Pública de Chile. (2010).
- [38]. JCGM 100. Evaluation of measurement data — Guide to the expression of uncertainty in measurement. (2008).

2. Estado del arte

En este capítulo se presenta el avance en relación al desarrollo de métodos analíticos para el análisis de mercurio atmosférico, diferenciando el tipo de analito que se analiza (mercurio metálico o iónico), centrado en el mercurio en fase de vapor, ya sean por métodos *in situ* que permiten la determinación directa del contaminante ambiental o métodos indirectos que comprenden dos etapas una etapa de muestreo y una de análisis químico en el laboratorio, en el cual se desarrolla esta investigación.

Se habla de los diferentes medios de captación, que son una variable muy importante, porque lo que realmente se prueba es que los parámetros estadísticos cumplan con los criterios generales para sustentar que la técnica se encuentra validada utilizando el medio de captación adecuado.

Los límites de detección de cada uno de los métodos, ya sean métodos directos (*in situ*) o indirectos (comprendiendo muestreo y análisis en el laboratorio), también se muestran, porque dependiendo de los límites de detección se puede definir el uso del método desarrollado, ya sea para muestras ambientales u ocupacionales.

El desarrollo de nuevos métodos químicos para el análisis de mercurio, se ha convertido en una preocupación mundial. Se busca utilizar medios de captación diferentes o técnicas de manejo cada vez más sencillas de las muestras en el laboratorio, que permitan detectar concentraciones aún más bajas que los límites ya establecidos por los diferentes organismos de regulación como peligrosos para la salud humana, evitando pérdida de muestra o contaminación cruzada, para tener métodos cada vez más confiables y precisos.

En la tabla 2.1 se muestran los diferentes límites permisibles de exposición establecidos por diferentes organismos internacionales y el medio de entrada al organismo.

Tabla 2.1. Límites permisibles de exposición

ORGANISMO DE CONTROL	LÍMITE PERMISIBLE DE EXPOSICIÓN	MEDIO DE ENTRADA
<i>Occupational Safety and Health Administration (OSHA)</i>	0.1 mg/m ³ (Ceiling) [2]	Piel
<i>National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH)</i>	0.05 mg/m ³ Límite de Exposición en el aire (REL) [1]	Piel
<i>American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH)</i>	0.025 mg/m ³ Límite umbral (TLV) [1]	Piel
<i>Environmental Protection Agency (EPA)</i>	3x10 ⁻⁴ mg/m ³ Concentración de inhalación de referencia (RfC) [3]	Inhalación

Para lograr resultados precisos se necesita que estos sean selectivos y con bajos límites de detección, apoyándose de una experimentación adecuada y de un correcto manejo estadístico para avalarlo.

2.1. Métodos directos (in situ)

Para el análisis en tiempo real (*in situ*) de mercurio elemental en la atmosfera, existen diferentes analizadores de mercurio, como por ejemplo el RA-915+ (Lumex, St. Petersburg, Russia). Su operación se basa en espectrometría de absorción atómica diferencial Zeeman (AAS-Zeeman); mediante la modulación de alta frecuencia de la polarización de la luz; su principal inconveniente es la calibración, la cual no puede ser realizada por el usuario y de acuerdo al intervalo de tiempo en el que se realice la medición, se presentan dos límites de detección:

- a) Intervalos de 1 segundo el límite de detección es 2 ng/m³ [4].
- b) Intervalos de 30 segundos el límite de detección es de 0.3 ng/m³ [5, 6]

Otra opción para la monitorización en tiempo real de mercurio elemental, es la utilización de sensores basados en la *espectroscopia* de cavidad resonancia del tipo “*ring-down*” (*CRDS*), la cual presenta límites de detección de 310 pg/m^3 [7]. También existen sensores basados en el principio de cambios de resistividad de películas delgadas de oro tras la absorción de mercurio, que muestran límites de detección de 100 pg [8] o sensores basados en fluorescencia inducida por láser (LIF), que tienen límites de detección de 400 pg/m^3 [9] y que ha evolucionado a sensores secuencial a dos-fotones de fluorescencia inducida láser (2P-LIF) con límites de detección del orden 15 pg/m^3 [10].

Otro tipo de técnicas de este tipo que se han desarrollado en los últimos años con resultados satisfactorios son las basadas en técnicas de emisión atómica como el plasma de descarga de barrera dieléctrica (*DBD*) la cual reporta límite de detección de 0.12 ng/l para mercurio elemental [11].

La desventaja de los métodos *in situ*, son en su mayoría la calibración de los equipos, ya que no pueden ser realizados por los usuarios y la limpieza de los sensores que es bastante laboriosa e incluso en algunos casos se debe de realizar cambio de sensores que llevan a sobrecostos [4, 5, 6,11].

2.2. Métodos indirectos

Los métodos indirectos son los que necesitan de dos etapas una de muestreo y otro de análisis químicos en el laboratorio, pero este último también se divide en dos métodos uno que necesita digestión y otros que no la necesitan.

En este trabajo se desarrolla un método de análisis químico dentro del laboratorio y no se incluye la etapa de muestreo, sin embargo, en el capítulo 5, sección 5.5 se realiza una caracterización del material de muestreo para comprobar la veracidad de esta afirmación, es decir, que si bien no hace parte de la investigación la etapa de muestreo se comprueba la validación establecida por la norma *NIOSH 6009*.

2.2.1. Métodos que necesitan digestión de muestras

La técnica más utilizada hasta el momento para la cuantificación de mercurio total, en muestras ambientales es la espectroscopia de fluorescencia atómica por vapor frío (CV-AFS) [12, 13, 14], la cual consiste en reducir el mercurio iónico (Hg^{2+}) a mercurio metálico

(Hg⁰) en solución ácida con un reductor fuerte como cloruro estañoso (SnCl₂) o borohidruro sódico (NaBH₄) y posteriormente ser arrastrado por un gas inerte como nitrógeno (N₂) o argón (Ar). El vapor se transporta directamente hacia el detector o se pre-concentra en una trampa de oro, liberando el mercurio hacia el detector. Con este tipo de técnica se alcanzan límites de detección excelentes del orden de ng/l y su principal aplicación ha sido en muestras ambientales de agua y sedimentos, aunque también se han encontrado resultados aceptables en muestras atmosféricas [15,16].

Otras de las técnicas frecuentemente utilizadas para la cuantificación de mercurio y que necesita digestión o pretratamiento de muestra es la espectrometría de absorción atómica por vapor frío (CV-AAS), la cual también consiste en reducir el mercurio divalente a mercurio metálico, para luego con un gas inerte ser arrastrado, teniendo lugar la detección por absorción atómica a una longitud de onda de 253.7 nm. En investigaciones que se han realizado con esta técnica se han encontrado límites de detección de 3 ng/m³ para muestras ambientales de mercurio en aire [17], ya en el caso de métodos validados por organismos de control internacional como lo es la *National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH)*, encontramos el método 6009, el cual utiliza espectrometría de absorción atómica por vapor frío para análisis de mercurio en fase de vapor, teniendo límites de detección de 0.03 µg [18] y que utiliza como medio de captación los filtros de *hopcalita*, teniendo como desventaja que se realiza digestión de la muestra que puede llevar a una posible contaminación o pérdida de esta, además de necesitarse más tiempo para el análisis, limitando la exactitud y confiabilidad del análisis.

El acoplamiento de plasma unido a un espectrofotómetro de masas (ICP-MS), es otra técnica muy utilizada para la cuantificación de mercurio orgánico (metil-mercurio, etil-mercurio) y una de las ventajas de esta técnica es que permite la determinación simultánea de varios elementos químicos y posee una alta sensibilidad para determinar trazas de los elementos químicos y por esto es tan utilizada para cuantificación en matrices más complejas, como por ejemplo, muestras biológicas encontrándose límites de detección del orden de µg/l [19, 20, 21].

Si se necesita determinar concentraciones más elevadas de mercurio en las muestras, se utilizan técnicas analíticas como el plasma acoplado por inducción unido a un espectrofotómetro de emisión atómica (ICP-AES), la cual ha sido muy usada para la cuantificación de mercurio en muestras de agua [22, 23, 24].

Finalmente se puede concluir que las grandes desventajas de realizar análisis de mercurio en cualquiera de sus formas, utilizando métodos de digestión son:

- Se presenta mayor posibilidad de contaminación de la muestra o pérdida de esta y más en el caso del mercurio donde los límites peligrosos para los seres humanos son muy bajos y se necesita determinar el contaminante a nivel de trazas.
- Son procesos largos y laboriosos y se utiliza mayor cantidad de reactivos, no siendo muy amigable con el medio ambiente.
- No se garantiza exactitud en los resultados, por pérdida y contaminación de la muestra. [18, 19, 20].

2.2.2. Métodos que no necesitan digestión de muestras

La preparación de las muestras se constituye en el punto más crítico a la hora de determinar la cantidad de mercurio; por lo tanto se han desarrollado técnicas analíticas que no necesitan pretratamiento de muestras, como por ejemplo análisis por activación neutrónica (INAA), para este método aplicado en muestras de aire se ha encontrado límites de detección de 10 ng de mercurio particulado [25, 26]; Absorción de rayos X del borde cercano (XANES), es un método que se ha utilizado en muestras de suelos contaminados con mercurio [27]. La emisión de rayos X inducida por partículas (PIXE), la cual tiene límites de detección de aproximadamente 0.4 ng/m³ para mercurio particulado en muestras de aire [26] y la fluorescencia de rayos X de energía dispersiva (ED-XRF), se ha convertido en una de las opciones para la determinación de contaminantes en partículas [26].

En el mercado existen muchos equipos que realizan lectura de mercurio realizando la determinación de la concentración por espectrometría de absorción atómica por vapor frío (CV-AAS) y que no necesita tratamiento de muestra, ya que esta se quema en un horno; el gas de escape pasa a través de la trampa con amalgama de oro, donde ocurre una pre-concentración del mercurio, luego la amalgama creada se calienta, y el mercurio es desorbido; ejemplos de este método tenemos el analizador de mercurio Nippon MA-3000, con el cual se realizó una investigación para mercurio particulado captado en filtros de fibra de cuarzo, encontrándose límites de detección del orden de 0.046 ng/m³ [20].

También se tiene el analizador de mercurio directo *DMA-80*, el cual es el equipo utilizado para esta investigación y con este se han obtenido resultados para mercurio particulado

en ambientes sobre filtros de fibra de cuarzo con límites de detección alrededor de 22 pg/m³ [29, 30] y muestreo pasivo para el mercurio elemental que consiste en un tubo de difusión, un protector de la lluvia y un vehículo de adsorción con una malla (tamaño de poro de 75 µm) y que posteriormente fue analizado en el DMA-80, teniendo límites de detección 0.05 ng/m³ [31].

Las diferencias al realizar el análisis en el *DMA-80 (Milestone Inc)*, dependen del tipo de mercurio que se desea cuantificar, ya sea mercurio particulado o elemental en fase de vapor, en el ejemplo anterior se muestra análisis de mercurio particulado, pero en el caso de esta investigación se desarrolla para mercurio elemental en fase de vapor Hg⁰, captado en filtros de *hopcalita*, los cuales a la hora de realizar el muestreo utilizan flujos de aire muy bajos, garantizando únicamente el arrastre del mercurio elemental en fase de vapor, sin captar el mercurio particulado, ya que las partículas son muy pesadas para ser arrastradas al medio de captación a flujos bajos [18, 29, 30].

Las ventajas de las técnicas que no necesitan pretratamiento de muestras, son muchas y entre ellas se encuentra la minimización de pérdida de muestra en el análisis o contaminación de estas, además de un menor tiempo para realizar el análisis y una disminución en el uso de químicos que pueden ser perjudiciales para el medio ambiente y que en muchos casos pueden contaminar las muestras. Permite cuantificar el mercurio en fase de vapor, sin necesidad de realizar transformaciones químicas, que implique la no reacción total y por lo tanto una cuantificación con una exactitud muy discutible.

Todos estos métodos analíticos para análisis de mercurio metálico en fase de vapor o mercurio elemental como contaminante ambiental, presentan excelentes límites de detección y alta sensibilidad, pero como este contaminante se presenta en concentraciones muy bajas y con matrices difíciles de manejar, se siguen buscando métodos analíticos confiables, precisos, sencillos y versátiles que no necesiten pretratamiento de muestra, evitando pérdida de muestra o contaminación cruzada y que sean específicos para diferentes medios de captación, que es una variable muy importante para el mercurio atmosférico, ya que dependiendo de esto se tendrán límites de detección, linealidades y en general parámetros de validación muy diferentes.

En la tabla 2.2, se resumen los métodos químicos analíticos que se han desarrollado para el análisis de mercurio en muestras ambientales atmosféricas y se especifica cada uno de los analitos, ya sea mercurio particulado o en fase de vapor que es nuestro

contaminante de interés, donde se presentan los diferentes tipos de medios de captación que se utilizan, como por ejemplo los filtros de fibra de cuarzo, que como se observa en la tabla son utilizados para medición de mercurio particulado (Hg_p), ya que permite el paso de grandes volúmenes de aire [32], lo mismo que para los filtros de teflón con la diferencia que estos últimos son hidrófobos, dándoles mayor resistencia en condiciones ambientales extremas [33]. En cuanto los filtros de *hopcalita* han sido utilizados para muestrear el mercurio atmosférico en fase de vapor en ambientes laborales, pero en el momento de llegar las muestras al laboratorio se hace necesario la digestión para formar los compuestos volátiles y la especie contenida en el analito se lleva con un flujo de gas inerte a la zona de detección; lo cual significa tiempos de análisis más largos, mayor posibilidad de contaminación de las muestras y posibilidad de daño medio ambiental por la utilización de más reactivos; por lo que se ha visto la necesidad de realizar el análisis directo a las muestras sólidas, es decir no realizar la digestión de los filtros de *hopcalita*, utilizando como herramienta de análisis el DMA-80, validando el método con todos los parámetros estadísticos necesarios [34,35].

Tabla 2.2. Antecedentes sobre la determinación de Hg atmosférico

ANALITO	TÉCNICA UTILIZADA	MEDIO DE CAPTACIÓN	LÍMITES DE DETECCIÓN (LD)	REFERENCIA
Mercurio particulado	CV-AAS	Filtro de membrana - Sartorius	3 ng/m ³	[16]
Mercurio elemental en fase de vapor	CV-AAS - Método NIOSH 6009	Tubos hopcalita una sola sección	0.03 µg	[17]
Mercurio particulado	INAA	Filtro de teflón	10 ng	[24, 25]
Mercurio particulado	PIXE	_____	0.4 ng/m ³	[26]
Mercurio elemental en fase de vapor	Tiempo real - RA-915+	_____	2 ng/m ³ , intervalo 1 segundo	[27]
Mercurio metálico en fase de vapor	Tiempo real -RA-915+	_____	0.3 ng/m ³ , intervalo 30 segundo	[4, 5]
Mercurio metálico en fase de vapor	Tiempo real – CRDS	_____	310 pg/m ³ ,	[6]

Tabla 2.2. (Continuación)

ANALITO	TÉCNICA UTILIZADA	MEDIO DE CAPTACIÓN	LÍMITES DE DETECCIÓN (LD)	REFERENCIA
Mercurio metálico en fase de vapor	Sensores, basado en el principio de cambios de resistividad	_____	100 pg	[8]
Mercurio metálico en fase de vapor	sensores basados en fluorescencia inducida por láser (LIF)	_____	400 pg/m ³	[9]
Mercurio metálico en fase de vapor	sensores secuencial a dos-fotones de fluorescencia inducida láser (2P-LIF)	_____	15 pg/m ³	[10]
Mercurio metálico en fase de vapor	Plasma de descarga de barrera dieléctrica (DBD)	_____	0.12 ng/l	[11]
Mercurio particulado	(CV-AAS) - analizador de mercurio Nippon MA-3000	Filtros de fibra de cuarzo	0.046 ng/m ³	[28]
Mercurio particulado	(CV-AAS) - analizador de mercurio directo DMA-80	Filtros de fibra de cuarzo	22 pg/m ³	[29, 30]
Mercurio metálico en fase de vapor	(CV-AAS) - analizador de mercurio directo DMA-80	Muestreo pasivo; consiste en un tubo de difusión, un protector de la lluvia y un vehículo de adsorción con una malla (tamaño de poro de 75 µm)	22 pg/m ³	[31]

Observando todas las técnicas antes mencionadas que se han desarrollado y validado (reportan límites de detección, exactitud , etc.), ya sean *in situ* o que necesitan análisis en el laboratorio, se puede mostrar qué se busca al desarrollar esta investigación:

Se busca desarrollar un método de análisis para mercurio en fase de vapor, acoplándolo con el muestreo ya validado por la *NIOSH* , utilizando como medio de captación filtros de *hopcalita* que no necesita digestión de la muestra, lo que implica menor pérdida o contaminación, utilizando como herramienta un analizador de mercurio directo *DMA-80 Milestone Inc*; que permite cuantificar el mercurio en fase de vapor, sin necesidad de realizar transformaciones químicas, que implique la no reacción total.

El medio de captación que se utiliza son tubos de *hopcalita*, que ya tienen una técnica de análisis ya validada, pero que implica digestión de la muestra a diferencia de la que se quiere demostrar.

En Colombia el avance en cuanto a validación de técnicas para análisis de mercurio en fase de vapor, ha sido lento y este tipo de muestras captadas en filtros de *hopcalita* se deben enviar a laboratorios extranjeros, incurriendo en sobre costos.

Al validar la técnica se busca demostrar en que campo de acción se puede utilizar, ya sea para ambientes ocupacionales o ambientes en general.

En los siguientes capítulos se muestran la metodología y resultados que se obtuvieron en este trabajo.

Bibliografía

- [1]. Occupational Safety & Health Administration. United States Department of Labor. Actualizado: 12 Noviembre 2012. [Fecha de consulta 29 agosto 2015]. Disponible en: https://www.osha.gov/dts/chemicalsampling/data/CH_250510.html<http://water.epa.gov/drink/agua/estandares.cfm>
- [2]. Occupational Safety & Health Administration. United States Department of Labor. Occupational health guideline for inorganic Mercury. (1978).
- [3]. Integrated Risk Information System. U.S Environmental Protection Agency. Actualizado: 31 Octubre 2014. [Fecha de consulta 29 agosto 2015]. Disponible en: <http://www.epa.gov/iris/subst/0370.htm#inhalrfc>
- [4]. Kocman, D.; Vreca, P.; Fajon, V.; Horvat, M. Atmospheric distribution and deposition of mercury in the Idrija Hg mine region, Slovenia. *Environ. Res.* 2011, *111*, 1 – 9.
- [5]. Ci, Z.; Zhang, X.; Wang, Z.; Niu, Z. Atmospheric gaseous elemental mercury (GEM) over a coastal/rural site downwind of East China: temporal variation and long-range transport. *Atmos. Environ.* 2011a, *45*, 2480 – 2487.
- [6]. Ci, Z.; Zhang, X. S.; Wang, Z. W.; Niu, Z. C.; Diao, X. Y.; Wang, S. W. Distribution and air-sea exchange of mercury (Hg) in the Yellow Sea. *Atmos. Chem. Phys. Discuss.* 2011b, *11*, 1511 – 1542.

-
- [7]. X. Fain, H. Moosmuller, D. Obrist. Toward real-time measurement of atmospheric mercury concentrations using cavity ring-down spectroscopy. *Atmos. Chem. Phys.* 10 (2010) 2879.
- [8]. B. Mazzolai, V. Mattoli, V. Raffa, G. Tripoli, D. Accoto, A. Menciassi, P. Dario. . A microfabricated physical sensor for atmospheric mercury monitoring *Sens. Actuators, A* 113 (2004) 282.
- [9]. D. Bauer, P. Campuzano-Jost, A.J. Hynes, J. Rapid, ultra-sensitive detection of gas phase elemental mercury under atmospheric conditions using sequential two-photon laser induced fluorescence *Environ. Monit.* 4 (2002) 339.
- [10]. D. Bauer¹ , S. Everhart¹ , J. Remeika¹ , C. Tatum Ernest^{1,*} , and A. J. Hynes¹ .Deployment of a sequential two-photon laser-induced fluorescence sensor for the detection of gaseous elemental mercury at ambient levels: fast, specific, ultrasensitive detection with parts-per-quadrillion sensitivity. (2014). *Atmos. Meas. Tech.*
- [11]. Puanggam, M.; Ohira, S. I.; Unob, F.; Wang, J. H.; Dasgupta, P. K. A cold plasma dielectric barrier discharge atomic emission detector for atmospheric mercury. *Talanta* 2010,81 , 1109 – 1115.
- [12]. Berzas- Nevada, j.j., Rodríguez Martín-Doimeadois, R.C., Jiménez Moreno, M., (2008). Determination of monomethylmercury in low and high – polluted sediments by microwave extraction and gas chromatography with atomic fluorescence detection. *Analytica Chimica acta* 608, 30-37.
- [13]. EPA. Mercury in water by cold vapor atomic fluorescence spectrometry. Method 245.7, second revision. Environmental protection agency, Washington DC. , (2005)
- [14]. Da Silva, M.J., Paim, A. P.S., Pimentel, M. F., Cervera, M.L., de la Guardia, M., (2010). Determination of mercury in rice by cold vapor atomic fluorescence spectrometry after microwave- assisted digestion. *Analytica Chimica Acta* 667, 43-48.
- [15]. Yao, H.; Feng, X.; Guo, Y.; Yan, H.; Fu, X.; Li, Z.; Meng, B. Mercury and methylmercury concentrations in two newly constructed reservoirs in the Wujiang River, Guizhou, China. *Environ. Toxicol. Chem.* 2011,30 , 530 – 537.
- [16]. Zhang, W. B.; Yang, X. A.; Ma, Y. Y.; Zhu, H. X.; Wang, S. B. Continuous flow electrolytic cold vapor generation atomic fluorescence spectrometric determination of Hg in water samples. *Microchem. J.* 2011a,97 , 201 – 206.

- [17]. Pehnec, G.; Sisovic, A.; Vadjic, V.; Zuzul, S. Influence of waste dump remediation on the levels of mercury in the air. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 2010, *84*, 623 – 627.
- [18]. NIOSH Manual of Analytical Methods, 4ta. ed., Method 6009. (1994)
- [19]. Rodrigues, J. L.; Souza, S. S. D.; Souza, V. C. D. O.; Barbosa, F. Jr. Methylmercury and inorganic mercury determination in blood by using liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry and a fast sample preparation procedure. *Talanta* 2010, *80*, 1158 – 1163.
- [20]. Tsoi, Y. K.; Tam, S.; Leung, K. S. Y. Rapid speciation of methylated and ethylated mercury in urine using headspace solid phase microextraction coupled to LC-ICP-MS. *J. Anal. At. Spectrom.* 2010, *25*, 1758 – 1762
- [21]. Moreno, F.; Barrera, T. G.; Ariza, J. L. G. Simultaneous analysis of mercury and selenium species including chiral forms of selenomethionine in human urine and serum by HPLC column-switching coupled to ICP-MS. *Analyst* 2010, *135*, 2700 – 2705.
- [22]. Chai, X.; Chang, X.; Hu, Z.; He, Q.; Tu, Z.; Li, Z. Solid phase extraction of trace Hg(II) on silica gel modified with 2-(2-oxoethyl)hydrazine carbothioamide and determination by ICP-AES. *Talanta* 2010, *82*, 1791 – 1796.
- [23]. Wang, Q.; Chang, X.; Li, D.; Hu, Z.; Li, R.; He, Q. Adsorption of chromium(III), mercury (II) and lead(II) ions onto 4-aminoantipyrine immobilized bentonite. *J. Hazard. Mater.* 2011, *186*, 1076 – 1081.
- [24]. Zhang, L.; Chang, X.; Hu, Z.; Zhang, L.; Shi, J.; Gao, R. Selective solid phase extraction and preconcentration of mercury(II) from environmental and biological samples using nanometer silica functionalized by 2,6-pyridine dicarboxylic acid. *Microchim. Acta* 2010a, *168*, 79 – 85.
- [25]. Osawa, T., Hatsukawa, Y., Appel, P. W. U., (2011). Mercury and gold concentrations of highly polluted environmental samples determined using prompt gamma-ray analysis and instrument neutron

activation analysis. Nuclear instrument and methods and physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms 269, 717-720.

[26]. Pandey, S. K., Kim, K. H., Brown, R.J. C., (2011). Measurement techniques for mercury species in ambient air. Trends in Analytical Chemistry 30, 899-917.

[27]. Bernaus, A., Gaona, X., Van Ree, D., Valiente, M., (2006). Determination of mercury in polluted soils surrounding a chlor-alkali plant Direct speciation by X-ray absorption spectroscopy techniques and preliminary geochemical characterisation of the area. Analytica Chimica Acta 565, 73-80.

[28]. Styszko K, et al. Mercury in atmospheric aerosols: A preliminary case study for the city of Krakow, Poland. C. R. Chimie (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.crci.2015.05.016>. (2015).

[29]. Schleicher, N.J., et al., Atmospheric particulate mercury in the megacity Beijing: Efficiency of mitigation measures and assessment of health effects. Atmospheric Environment (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.atmosenv.2015.09.040>.

[30]. N.J. Schleicher , J. Schafer, G. Blanc b , Y. Chen , F. Chai c , K. Cen, S. Norra a. Atmospheric particulate mercury in the megacity Beijing: Spatiotemporal variations and source apportionment. Atmospheric Environment (2014).

[31]. H. Guo, H. Lin, W. Zhang, C. Deng, H. Wang, Q. Zhang, Y. Shen, X. Wang. Influence of meteorological factors on the atmospheric mercury measurement by a novel passive sampler: Atmospheric Environment (2014).

[32]. Hahnemuhle paper makes the difference. Actualizado: 1 de Febrero de 2016. [Fecha de consulta 1 mayo 2016]. Disponible en: <http://www.hahnemuehle.com/es/filtracion/filtracion/filtros-de-fibra-de-vidrio-y-de-cuarzo/filtros-de-fibra-de-cuarzo.html>.

[33]. Hahnemuhle paper makes the difference. Actualizado: 1 de Febrero de 2016. [Fecha de consulta 1 mayo 2016]. Disponible en: <http://www.hahnemuehle.com/es/filtracion/filtracion/filtro membrana/filtro-de-membrana-de-ptfe.html>.

[34]. Aquaria Srl. Hopcalite tube. Actualizado: 1 de Enero 2014. [Fecha de consulta 1 mayo 2016]. Disponible en: http://www.aquariasrl.com/site2/pages/prodotti/scheda.php?id_prod=371

[35]. G.C. García. Determinación de mercurio por generación de vapor frío y detección vía absorción y fluorescencia atómica. Universidad Simón Bolívar. (2010).

3. Objetivos

3.1. Objetivo General

- Desarrollar un método analítico confiable, preciso, sencillo y versátil para la determinación de contenidos de mercurio en muestras atmosféricas.

3.2. Objetivos específicos

- Realizar una revisión bibliográfica, apropiarse y realizar las modificaciones pertinentes, que defina los contenidos en la elaboración de una metodología, para el desarrollo de nuevas técnicas analíticas para la cuantificación de contaminantes ambientales.
- Validar de forma experimental la técnica analítica, evaluando parámetros estadísticos tales como: linealidad, exactitud, precisión, reproducibilidad, repetibilidad y selectividad a la técnica analítica de análisis de mercurio para muestras ambientales en matriz aire.
- Determinar la aplicación y limitaciones de la metodología analítica desarrollada en campos ambientales u ocupacionales.

4. Metodología

En este capítulo se presenta la descripción metodológica propuesta para el desarrollo del método analítico. La figura 4.1 muestra el desarrollo esquemático para la obtención de un nuevo método analítico.

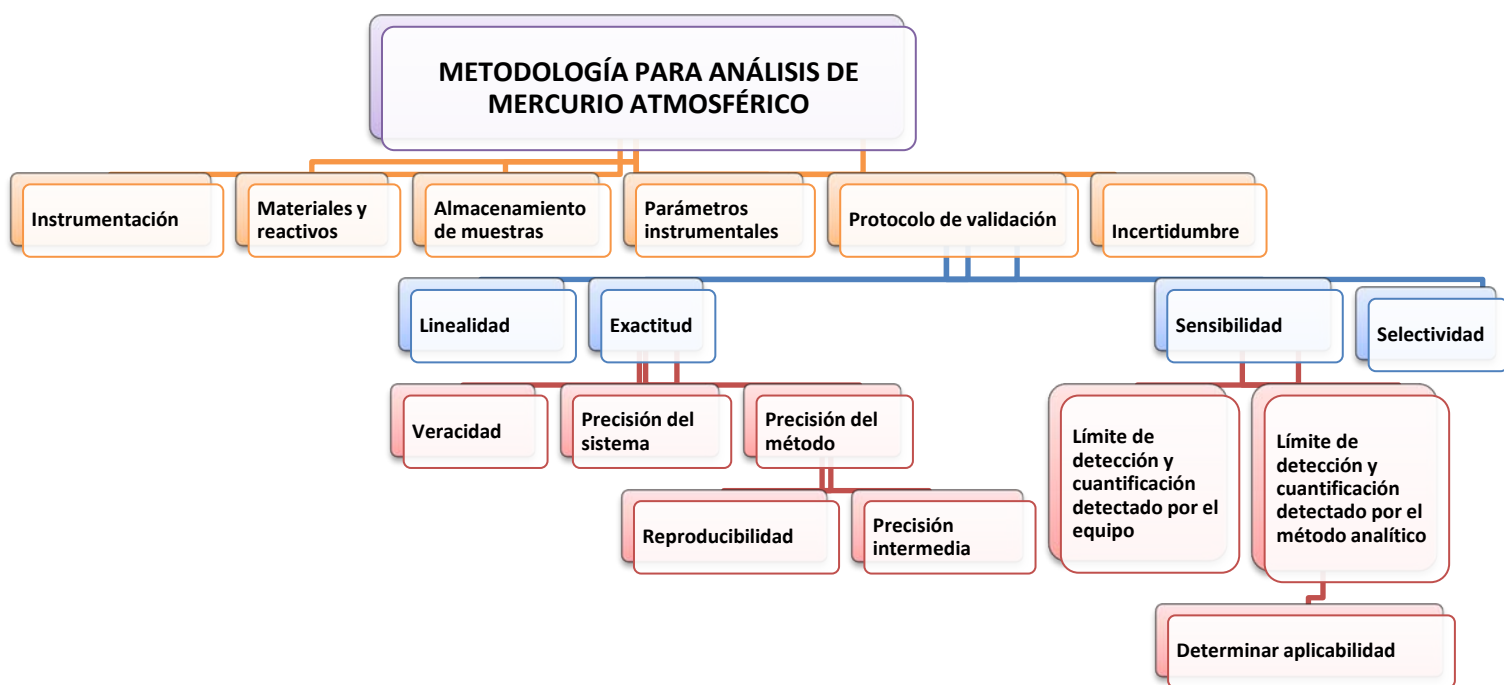


Figura 4.1. Esquema desarrollado para validar el nuevo método analítica para análisis de mercurio elemental en fase de vapor

4.1. Instrumentación

A continuación se describen los instrumentos utilizados para la determinación y/o caracterización del mercurio atmosférico.

4.1.1. Analizador de mercurio directo DMA-80

El analizador de mercurio *DMA-80 Milestone* emplea el principio de descomposición térmica, amalgamación y absorción atómica, con un flujo continuo de oxígeno y presenta como ventaja que la muestra puede ser analizada directamente del medio de captación, en este caso la *hopcalita* sin necesidad de pretratamiento de muestra, como si lo necesitan otros métodos de análisis desarrollados, como por ejemplo; la norma *National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) 6009* [3]. La figura 4.2 muestra su funcionamiento, el cual consiste en primer lugar en pesar e introducir las muestras al equipo, cuando el equipo entra en funcionamiento estas son secadas a una temperatura de 200 °C y en este caso se realiza por 10 segundos, ya que la muestra captadas en *hopcalita* presenta una mínima cantidad de hidratos a eliminar [1], luego se descompone térmicamente en un horno enriquecido con oxígeno a 650 °C para que el mercurio sea liberado junto con otros compuestos químicos y pasan por el catalizador que se encuentra a una temperatura de 615 °C, donde se eliminan compuestos tales como; óxidos de azufre, óxidos de nitrógeno, halógenos y otros compuestos El mercurio se retiene de forma selectiva, en otro horno separado, en una amalgama de oro, este horno se calienta rápidamente hasta aproximadamente 850 °C y se libera rápidamente el mercurio en fase de vapor. El mercurio es transportado por el gas portador a un único bloque con una disposición de celda doble o triple, ubicadas a lo largo del paso óptico del espectrofotómetro, donde se mide cuantitativamente por absorción atómica a 253,65 nm [1].

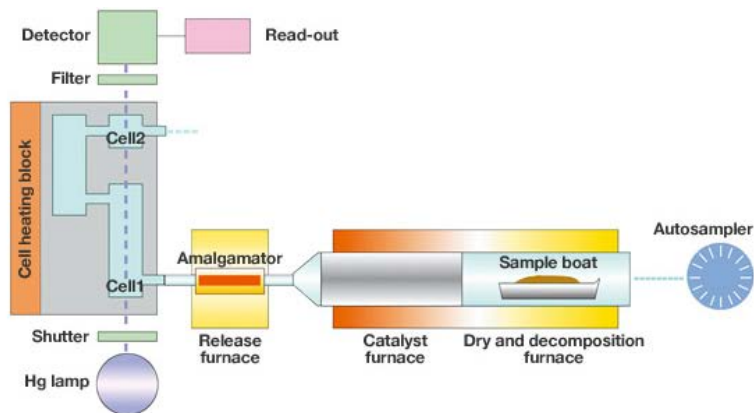


Figura 4.2. Esquema del funcionamiento del DMA-80 (Tomada del catálogo Milestone) [1]

En la figura 4.3 se muestra el analizador de mercurio el cual consta de:

- Automuestreador
- Porta muestras
- Horno de secado / Descomposición
- Horno catalizador
- Amalgama
- Espectrofotómetro

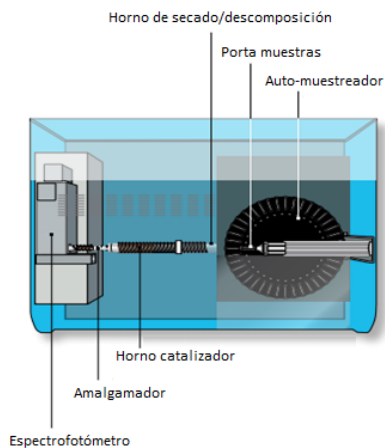


Figura 4.3. Partes DMA-80 (Tomada del catálogo Milestone) [1]

- **Limpieza del analizador de mercurio**

Se debe de verificar que el equipo DMA-80 no ha quedado contaminado por corridas anteriores, esto se realiza haciendo análisis sin las celdas de cuarzo, los cuales deben de dar como resultados concentraciones en $\mu\text{g}/\text{kg}$ de cero, de no ser así se debe de repetir el procedimiento las veces que sea necesario hasta encontrar la concentración en ceros [1].

4.1.2. Balanza Ohaus Discovery

La Balanza analítica utilizada para los análisis corresponde a un equipo OHAUS DISCOVERY modelo DV215CD, con las siguientes especificaciones [2].

Tabla 4.1. Especificaciones balanza OHAUS

Especificación	
Capacidad	81/210
Capacidad de lectura (mg)	0.01/0.1
Repetibilidad (desviación estándar) (mg)	0.02/0.1
Linealidad (mg)	+/- 0.03/0.2
Tiempo de estabilización (min)	12/5
Rango de temperatura de operación	10°C a 40°C

Se hace referencia a esta balanza, ya que constituye la primera medición en el método y juega un papel importante en la validación del método, por lo que se debe garantizar su exactitud, la cual está incluida en la incertidumbre

4.2. Materiales y reactivos

4.2.1. Celdas de cuarzo

En la figura 4, se muestra la celda de cuarzo o porta muestras, que tienen un volumen de 1500 μl .

Se utilizan este tipo de celdas ya que resisten altas temperaturas y no generan subproductos de reacción; además se facilita su limpieza con ácidos fuertes sin deteriorarse fácilmente y teniendo un tiempo de vida útil mucho más largo [1].

- **Limpieza de celdas de cuarzo**

Las celdas de cuarzo se lavan con una solución jabonosa preparada con detergente neutro, especial para lavado de material de laboratorios y posteriormente se dejan en HNO₃ al 5% durante 30 minutos, se enjuagan con abundante agua desionizada y se dejan secar a temperatura ambiente, esto es con el fin de remover todo tipo de contaminante [1].

Las celdas vacías, deben de ser verificadas, utilizando los mismos parámetros que se utilizan con muestras; y los resultados arrojados por el equipo deben de ser de concentraciones µg/kg de cero, como en los casos anteriores. Para garantizar la correcta limpieza de las celdas, cada mes se deben limpiar con HNO₃ al 65% durante 30 minutos [1].



Figura 4.4. Celda de cuarzo

4.2.2. Material volumétrico

El material volumétrico utilizado a nivel general es de clase A, esto significa que la tolerancia está fijada por las normas DIN e ISO, como la aplicación de la norma *ISO 4788*, teniendo como ventaja que la incertidumbre general del método, no se va a ver tan influenciada por los errores propios del material utilizado.

- **Limpieza del material volumétrico**

Es muy importante realizar una adecuada limpieza del material que se va a utilizar, para remover residuos que puedan afectar la medición y así evitar contaminación cruzada o directa que afecten la validez de los resultados obtenidos.

Todo el material de laboratorio utilizado (beaker, pipetas y balones volumétricos) se lava con una solución jabonosa de detergente neutro y posteriormente se dejan en HNO₃ al 5% durante 30 minutos, se enjuagan con abundante agua desionizada y se dejan secar a

temperatura ambiente. Para garantizar el correcto lavado del material volumétrico, se realizan análisis de presencia de mercurio en el agua del último enjuague del material, el cual debe dar como resultado concentraciones en $\mu\text{g}/\text{kg}$ de cero, demostrando ausencia de mercurio y el correcto lavado del material. El método de lavado para el material utilizado para análisis de mercurio recomienda HNO_3 10% [1], pero al realizar la comprobación con el ácido menos diluido se obtienen los mismos resultados, realizando el análisis de presencia de mercurio.

4.2.3. Solución patrón de mercurio

La solución patrón trazable de 1000mg/l Certipur de la MERCK, sirve como patrón primario para preparar los patrones secundarios para la curva de calibración.

4.2.4. Ácido nítrico al 65%

El ácido nítrico 65% p.a. EMSURE® ISO de la MERCK, se utiliza para preparar la matriz de solución para la curva de calibración, puntos de control, blanco de reactivo y lavado de material volumétrico.

4.2.5. Agua desionizada

El agua desionizada es de tipo I y esta se utiliza para preparar la matriz (HNO_3 5%), la curva de calibración y enjuague de lavado del material volumétrico.

4.2.6. Oxígeno

El gas portador que se utiliza para analizar las muestras en el equipo DMA-80, es el oxígeno ultra puro (99.999%) de proveedor nacional CRYOGAS Grupo INDURA.

4.3. Parámetros de muestreo y almacenamiento de muestras

4.3.1. Parámetros de muestreo

Los parámetros de muestreo que se utilizan son los ya establecidos por la norma (NIOSH) 6009 [3]. La cual utiliza como medio de captación los tubos de *hopcalita* de una sola sección y es la forma como entra la muestra al laboratorio. Como se ha dicho

anteriormente lo que se va a variar en esta investigación es la forma como se analiza la muestra, ya que la norma *NIOSH 6009*, realiza pretratamiento de muestra, mientras que en el método propuesto, se busca obviar este paso.

Tabla 4.2. Parámetros establecidos por la norma *NIOSH 6009* [3]

PARÁMETROS	VALOR
Medio de captación	Tubos de <i>hopcalita</i> de una sola sección
Velocidad del flujo	0.15 a 0.25 l/min
Volumen	2 l a 100 l
Estabilidad de la muestra	30 días
Blancos	2 a 10

Sin embargo, en la sección 5.5 se hace un análisis superficial de la *hopcalita* como una segunda validación de lo ya reportado por la *NIOSH 6009*.

4.3.2. Almacenamiento de muestras

Debido a que el mercurio es un compuesto altamente volátil existe una gran posibilidad de que se produzcan pérdidas de muestras por las paredes de los recipientes donde se absorbe el mercurio, esto pasa especialmente en materiales de plásticos, de ahí la recomendación de utilizar las paredes de los recipiente de material de vidrio que permiten una mejor conservación de la muestras [4].

Durante el almacenamiento de las muestras se pueden alterar las concentraciones del analito por las diferentes reacciones que se pueden presentar entre compuestos, o por cambios de temperatura, pH o presión. Por lo que se recomienda realizar el análisis inmediatamente o almacenarlas a temperaturas inferiores a 8°C para evitar pérdida de muestras por desorción [5].

4.4. Parámetros intrumentales

Las muestras son secadas a una temperatura de 200 °C y en este caso se realiza por 10 segundos, para eliminar hidratos, como se dijo anteriormente [1], luego se descompone térmicamente en un horno enriquecido con oxígeno a 650 °C, obteniéndose mercurio en

fase de vapor después de pasar por las etapas ya mencionadas en la sección 4.1.1. para su lectura final [1, 6].

La misma cantidad de mercurio es medida dos veces, usando dos sensibilidades diferentes, lo cual permite ver 2 picos individuales que corresponden a la diferencia de sensibilidad de las dos celdas de absorción [6].

La intensidad máxima en la cubeta de trayectoria larga (celda de rango bajo) se realiza en aproximadamente 8 segundos y la máxima intensidad de la cubeta de trayectoria corta (celda de rango alto) toma alrededor de 20 segundos [6].

Los parámetros con los cuales se efectúa el análisis se compilan en la tabla 4.3 y dependen del tipo de muestra a analizar, así por ejemplo para el método estudiado aplica tiempo de secados cortos (menor cantidad de hidratos para eliminar), ya que se analizan muestras sólidas [7].

Tabla 4.3. Parámetros instrumentales del método

NOMBRE	TEMPERATURA	TIEMPO
Temperatura de secado	200 °C	
Tiempo de Secado		10 sec
Temperatura de Descomposición	650 °C	
Tiempo de Descomposición		180 sec
Tiempo de purga		60 sec
Tiempo de amalgamación		30 sec
Tiempo de recorrido del pico		30 sec

El equipo puede ser calibrado en dos intervalos de trabajo. Se pueden incluir los dos rangos o realizarlo con uno solo:

1. Intervalo bajo: 0 -20 ng Hg (incluye blanco)
2. Intervalo alto: 20 -1000 ng Hg

Para la estandarización del método se utiliza un intervalo de trabajo de 0 - 90 ng Hg; el cual incluye análisis de blanco de muestreo y de muestras de baja concentración, además incluye tanto el rango bajo como el rango alto [6]

Se puede hacer con dos tipos de calibración A y B:

Tipo A: utiliza dos soluciones estándares con diferentes volúmenes.

Tipo B: utiliza diferentes soluciones estándares con el mismo volumen.

Para la estandarización del método se utilizará la calibración tipo B, ya que al realizar la calibración tipo A, se puede incurrir en un aumento de la incertidumbre, porque se necesitaría manejar instrumentación de diferentes medidas [6].

4.5. Protocolo de validación

4.5.1. Comprobación de la linealidad

Con el fin de demostrar la linealidad de la respuesta del analito en el rango de trabajo establecido por la técnica analítica se preparan seis curvas de calibración [8,9] (Ver Tabla 4.4).

Tabla 4.4. Preparación curva de calibración

Solución de trabajo (mg/l)	Volumen utilizado (µl)	Volumen de Aforación (ml)	Diluyente	Concentraciones curva (µg/l)
1.00	50	10.00	HNO ₃ al 5%	5
	100			10
	150			15
	200			20
	400			40
	3000			300
	6000			600
	9000			900

1. Se mide una alícuota de 0.1 ml de cada uno de los estándares y agregar en cada una de las celdas de cuarzo para su posterior análisis.
2. Después de obtenido los datos se someten a regresión lineal para obtener la ecuación de cada recta (ver ecuación 7):

$$y = mx + b \quad \text{Ec. 7}$$

Donde:

m: pendiente de la curva de calibración

b: intercepto de la curva

r: coeficiente de correlación lineal

3. Verificar que: La concentración ($\mu\text{g/l}$) y la absorbancia se relacionen linealmente, por medio de un análisis de varianza ANOVA, estableciendo las siguientes hipótesis.

Ho: Cantidad de $\mu\text{g/L}$ y absorbancia se relacionan linealmente.

H1: Cantidad de $\mu\text{g/L}$ y absorbancia no se relacionan linealmente.

$$F_{\text{calculado}} < F_{\text{tabulado}}, \text{ se acepta la Hipótesis nula}$$

Las ecuaciones para realizar el cálculo del *F. calculado*, son las siguientes:

- a) Suma total de cuadrados (ecuaciones 8 y 9)

$$SC_T = \sum \sum xi^2 - \frac{(\sum \sum x)^2}{N} \quad \text{Ec. 8}$$

$$\text{Grados de libertad totales} = gl_{\text{total}} = N - 1 \quad \text{Ec. 9}$$

- b) Suma cuadrados entre grupos (ecuación 10).

$$SC_B = \frac{\sum(x_A)^2}{n_A} + \frac{\sum(x_B)^2}{n_B} + \frac{\sum(x_C)^2}{n_C} \dots - \frac{(\sum \sum x)^2}{N} \quad \text{Ec. 10}$$

$$\text{Grados de libertad entre grupos} = gl_B = n' - 1 \quad \text{Ec. 10.1}$$

- c) Suma de cuadrados residuales o dentro del grupo, es decir, dentro de los métodos (ver ecuación 11).

$$SC_W = SC_T - SC_B \quad \text{Ec. 11}$$

$$\text{Grados de libertad dentro del grupo} = gl_W = gl_{\text{total}} - gl_B \quad \text{Ec. 11.1}$$

d) Prueba de Fisher (F . calculado) (ecuación 12).

$$F_{\text{Calculado}} = \frac{(SC_B/gl_B)}{(SC_W/gl_W)} \quad \text{Ec. 12}$$

4. Verificar que: El coeficiente de correlación (R), y porcentaje de desviación de la pendiente (% RSD_m), cumplan con los siguientes parámetros:

- $R^2 > 0.990$
- $\%RSD_m < 5\%$

5. Utilizando la tabla de distribución de t -Student verifique que:

a) El intercepto sea un valor cercano a cero con las siguientes hipótesis,

Ho: El valor del intercepto es cercano a cero

H1: El valor del intercepto no es cercano a cero

$$t_{exp} < t_{v,\alpha}, \quad \text{Se acepta hipótesis nula}$$

El valor de t_{exp} se calcula mediante la siguiente ecuación (ecuación 13)

$$t_{exp} = \frac{b}{SD_b} \quad \text{Ec. 13}$$

Donde:

b : intercepto de la curva

SD_b : Desviación estandar del intercepto

El valor así obtenido se compara con el valor tabulado para $t_{v,\alpha}$ siendo $v = n - 1$ grados de libertad y $\alpha = 0.05$

b) Para comprobar que a pendiente es significativamente diferente de cero se utilizan las siguientes hipótesis:

Ho: El valor de la pendiente no es significativamente diferente de cero

H1: El valor de la pendiente es significativamente diferente de cero

$$t_{exp} > t_{v,\alpha}, \quad \text{Se rechaza la hipótesis nula}$$

El valor de t_{exp} se calcula mediante la siguiente ecuación (ecuación 14)

$$t_{exp} = \frac{a}{SD_a} \quad Ec. 14$$

Donde:

a: pendiente de la curva

SD_a : Desviación estandar de la curva

El valor así obtenido se compara con el valor tabulado para $t_{v,\alpha}$ siendo $v = n - 1$ grados de libertad y $\alpha = 0.05$

Verificar que: La desviación estándar relativa no supere el 15% del valor nominal para cada concentración.

4.5.2. Comprobación de la exactitud

La exactitud se evalúa por medio de la estimación de los efectos sistemáticos y aleatorios sobre los resultados obtenidos de un análisis. La manera de evaluar los errores sistemáticos y aleatorios de los resultados es por medio de la precisión del sistema, la precisión del método y finalmente la veracidad [8,9].

a) Determinación de la precisión del sistema

Con los datos de las curvas de calibración preparadas en la comprobación de la linealidad, se calcula la desviación estándar y el coeficiente de variación (%RSD) de las respuestas obtenidas para cada concentración (ver ecuación 15).

$$x = \frac{y-b}{m} \quad Ec. 15$$

Verificar que: $\%RSD < 15\%$

b) Determinación de la Precisión del Método

La evaluación de la precisión del método, se realiza mediante mediciones en condiciones repetitivas y en condiciones reproducibles (precisión intermedia) y veracidad.

- Determinación de la Repetibilidad
 1. Preparar tres estándares de la curva de calibración ya establecida, con concentración alta, media y baja, según la siguiente tabla.

Tabla 4.5. Estándares utilizados en la determinación de la repetibilidad.

Alta µg/l	Media µg/l	Baja µg/l
300	20	5

- Realizar seis lecturas de cada estándar, cada estándar se lee seis veces, en total se obtiene 30 lecturas de cada estándar.
- Calcular el promedio, la desviación estándar, y el coeficiente de variación de las absorbancias obtenidas.
- Calcular $\%RSD^*$ empleando la ecuación de $\%RSD^* = 2^{(1-0.5\log C)}$ siendo C la concentración de metal expresada en porcentaje (V/V).
- Comparar los valores de $\% RSD$ para cada concentración con los $\% RSD^*$ de la ecuación de Hortwitz, los cuales deben ser menores que los de Horwitz dividido entre dos. (ver ecuación 16)

$$\% RSD < \% RSD^*/2 = (2^{(1-0.5 \log C)})/2 \quad \text{Ec. 16}$$

- Determinación de la precisión intermedia

La precisión intermedia se evalúa de la siguiente manera:

- Leer un estándar de concentración intermedia no evaluado en la repetibilidad (Ver Tabla 4.6), durante tres días diferentes, realizar seis lecturas de la misma muestra en total se obtienen 18 lecturas.
- Calcular el promedio, la desviación estándar, el coeficiente de variación de las respuestas obtenidas en los diferentes días.

Tabla 4.6. Estándar de mercurio utilizado en la determinación de la reproducibilidad

Metal	Concentración (µg/l)
Mercurio	15.00

- Verificar que: $\% RSD < 5 \%$ en el día
 $\% RSD < 5\%$ entre días.

NOTA: La solución de concentración intermedia debe prepararse diariamente

- Comparar los valores de % *RSD* para cada concentración con los % *RSD** de la ecuación de Hortwitz, los cuales deben ser menores que los de Horwitz dividido entre dos.

$$\% RSD < (2/3)\% RSD^* = (2^{(1-0.5 \text{Log} C)}) (2/3) \quad \text{Ec. 17}$$

- Determinación de la veracidad

El procedimiento para evaluar la veracidad será el siguiente:

- Preparar tres estándares de la curva de calibración con concentración bajo, medio y alto; dopándolas con muestras de aire libre de exposición al mercurio (blancos de muestreo) como se presenta en la Tabla 4.7.

Tabla 4.7. Estándares utilizados en la veracidad

Solución de trabajo (mg/l)	Volumen utilizado (µl)	Estándar concentración intermedia (µg/l)	Estándar concentración final (µg/l)
1.0	300	30	15
	400	40	20
	500	50	25

- Medir 0.5 ml de los estándares intermedios y 0.5 ml de la solución a determinar la veracidad, quedando al final concentraciones de 15, 20 y 25 µg/l.
- Realizar la lectura de las tres soluciones dopadas por triplicado.
- Calcular el porcentaje de recuperación (ecuación 18)

$$\%R = \frac{\bar{x}}{\mu} * 100 \quad \text{Ec. 18}$$

Donde

µ: valor teórico o verdadero

- Se considera como aceptable la veracidad si la recuperación media se encuentra entre los márgenes establecidos en la Tabla 4.8 de porcentaje de recuperación admitidos por la AOAC "Association of Official Analytical Chemists".

Tabla 4.8. Rangos del porcentaje de Recuperación aceptables

%Concentración	Unidades	%Recuperación admitido
100	100%	98 –102
> 10	10%	98 –102
>1	1%	97 –103
>0,1	0,1%	95 –105
0,01	100 mg/l	90 –107
0,001	10 mg/l	80 –110
0,0001	1 mg/l	80 –110
0,00001	100 µg/l	80 –110
0,000001	10 µg/l	60 –115
0,0000001	1 µg/l	40 –120

6. Calcular el valor de t experimental $|t|$ empleando la siguiente formula:

$$|t| = (100 - \%R) \left(\frac{\sqrt{n}}{SD} \right) \quad \text{Ec. 19}$$

Donde

$|t|$: t experimental

n: número de lecturas

SD: Desviación estandar

7. Verificar cuál de las siguientes hipótesis se cumple:

Ho: El método es veraz

H1: El método no es veraz

$$t_{exp} \leq t_{crítico} \quad \text{Se acepta hipótesis nula}$$

Si se cumple lo anterior para el número de grados de libertad correspondiente a $(n - 1)$ en un intervalo de confianza del 95%, se puede considerar que no existe diferencia significativa con el 100% de recuperación y la veracidad es apropiada.

4.5.3. Sensibilidad

La sensibilidad está determinada por el factor de sensibilidad, el límite de detección y el límite de cuantificación. El cálculo se realiza bajo el método *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC) [8, 9].

a) Factor de sensibilidad

Calcular el factor de sensibilidad (concentración del analito/absorbancia) para cada punto de la curva de calibración promedio y verificar que el coeficiente de variación total del factor de sensibilidad (*%RSD Factor de sensibilidad*) no supere el 5%

b) Límite de detección y cuantificación del blanco de reactivos

Para determinar a modo de información el límite de del blanco de reactivos se realiza 10 mediciones repetidas de un blanco de reactivos, calcular la desviación estándar (SD) de la respuesta obtenida y la pendiente (m) de la curva de calibración.

- Límite de detección

$$LD = \frac{3SD}{m} \quad \text{Ec. 20}$$

Donde

SD: Desviación estandar

m: pendiente de la curva de calibración

- Límite de cuantificación

$$LC = \frac{10SD}{m} \quad \text{Ec. 21}$$

Donde

SD: Desviación estandar

m: pendiente de la curva de calibración

- c) Límite de detección y límite de cuantificación para la determinación de la mínima concentración detectada por el equipo.

Para determinar la mínima concentración detectada por el equipo se sigue los siguientes pasos:

1. Comenzando con un estándar de baja concentración, se realizan concentraciones mayores, hasta encontrar la mínima concentración detectada por el equipo (Ver Tabla 4.9).
2. Cada concentración se analiza en cinco repeticiones, calculando el promedio de estas mediciones.
3. Una vez determinada la mínima concentración a la que se obtiene respuesta, se valida el límite de detección, al realizar análisis de repetibilidad y reproducibilidad.
4. La repetibilidad se evalúa al analizar 5 réplicas de la concentración elegida en la determinación de la mínima concentración
5. La reproducibilidad (precisión intermedia) se evalúa al realizar el ensayo en tres días diferentes de la concentración elegida en la repetibilidad, preparando diariamente la solución correspondiente.

Tabla 4.9. Estándares utilizados en el límite de detección del equipo

Solución de trabajo (mg/l)	Volumen utilizado (µl)	Estándar concentración final (µg/l)	Volumen de aforación (ml)
1.0	50	5	10.00
	60	6	
	70	7	
	80	8	
	90	9	
	100	10	

6. Calcular el límite de detección con la ecuación 20.
7. Calcular el límite de cuantificación la ecuación 21.

d) Límite de Detección y Límite de Cuantificación para determinación de la mínima concentración detectada por el método analítica.

Para determinar la mínima concentración detectada por el método analítica que se está desarrollando se siguen los siguientes pasos:

1. Se comienza con un estándar de baja concentración dopándolo con muestras de aire libre de exposición al Mercurio (Ver tabla 4.10).
2. Una vez determinada la mínima concentración a la que se obtiene respuesta, se valida el límite de detección, al realizar análisis de repetibilidad y precisión intermedia.
3. La repetibilidad se evalúa al analizar 5 réplicas de la concentración elegida en la determinación de la mínima concentración.

La precisión intermedia se evalúa al realizar el ensayo en tres días diferentes de la concentración elegida en la repetibilidad, preparando diariamente la solución correspondiente.

Tabla 4.10. Estándares utilizados en el límite de detección del método

Solución de trabajo (mg/l)	Volumen utilizado (µl)	Estándar concentración intermedia (µg/l)	Estándar concentración final (µg/l)
1.0	120	12	6
	140	14	7
	160	16	8
	180	18	9
	200	20	10
	220	22	11

4. Calcular el límite de detección ecuación 20
5. Calcular el límite de cuantificación ecuación 21

4.5.4. Selectividad

Para determinar la selectividad, se realizará el siguiente procedimiento:

1. Se prepara una solución con concentración conocida dopada con diferentes compuestos que puedan realizar algún tipo de interferencia, como se muestra en la Tabla 4.11.
2. Comparar los resultados y verificar la correcta separación de sus respuestas.
3. Evaluar los porcentajes de recuperación y establecer si se encuentran entre los límites establecidos por la AOAC (tabla 4.6).

Tabla 4.11. Concentración de Metales utilizadas en la determinación de la selectividad

Concentración de matriz sin interferencia (($\mu\text{g/l}$))	45.0
Interferencias	Níquel, Hierro, Cobre, Manganeseo, Zinc, Plomo, Plata, Cadmio, Cromo, Aluminio

4.6. Incertidumbre

Para trabajar el cálculo de incertidumbres, el cual se desarrolla desde el numeral 4.6.1 hasta el numeral 4.6.3 se utilizará como referencia la norma “*ISO Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement*” [10].

4.6.1. Identificación de las Fuentes de Incertidumbre

Tal como se mencionó en la sección 1.5.3, existen dos métodos básicos para cuantificar la incertidumbre asociada a una medición, éstos son: el método de evaluación tipo A y el método de evaluación tipo B [10]. Generalmente para el análisis de las fuentes de incertidumbre se utiliza el diagrama de espina de pescado u otro tipo de diseño esquemático que permita identificar con facilidad las fuentes de incertidumbre presentes durante el proceso analítico.

Para la presente investigación en la Figura 4.5 se ilustra la aplicación del método de espina de pescado para la identificación de las posibles fuentes de incertidumbre involucradas en el proceso de análisis de mercurio directo, los cuales fueron identificados, de acuerdo al proceso que se lleva a cabo para analizar la muestra.

Las incertidumbres de los métodos, son únicas, por lo que con solo variar un instrumento esta puede cambiar.

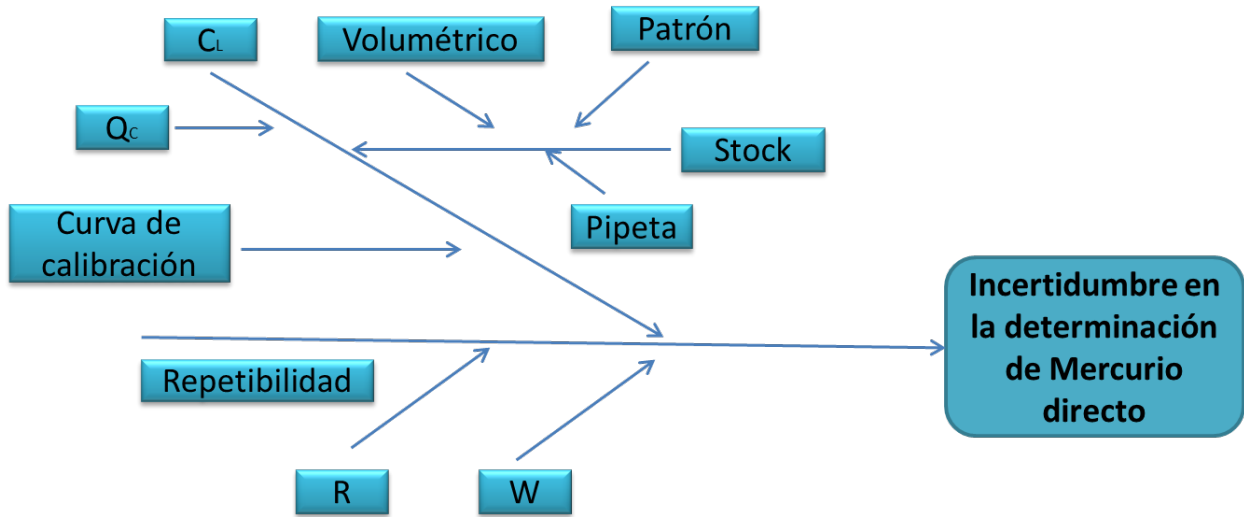


Figura 4.5. Diagrama de causa y efecto para identificar las fuentes de incertidumbre

Dónde:

Q_C : Incertidumbre del punto de control de calidad

C_L : Incertidumbre combinada de la lectura C_L

R : Incertidumbre de recuperación

W : Incertidumbre del peso de la muestra

1. Incertidumbre de la determinación de la masa

- Incertidumbre de la tara y/o el pesaje:
 - a) Linealidad: La linealidad de la balanza OHAUS DISCOVERY 10901 reportada por el fabricante es de $\leq a$ (0.02 mg) (asumiendo una distribución normal; los resultados de una medición repetida afectada por una o más magnitudes de influencia que varían aleatoriamente, generalmente siguen una distribución normal. Un ejemplo de este tipo de distribución corresponde a la incertidumbre indicada en certificados de calibración.

$$\mu_{Lin} = \frac{a}{k} \quad \text{Ec. 22}$$

Donde:

a = Incertidumbre reportada por el fabricante

k = Factor de cobertura de $K = 2$ para un grado de confianza del 95,45%.

b) Resolución de la escala: La precisión de la balanza OHAUS DISCOVERY 10901 es de b (0.03mg) (variación en el último dígito en la escala de 0 – 81 g).

$$\mu_{RE} = \frac{b/2}{\sqrt{3}} \quad \text{Ec. 23}$$

Donde:

b = incertidumbre de Precisión

La incertidumbre combinada de la tara y el pesaje, está dada por la siguiente ecuación, ya que las magnitudes de entrada son no correlacionadas:

$$\mu_{Pesar} = \sqrt{(\mu_{RE})^2 + (\mu_{Lin})^2} \quad \text{Ec. 24}$$

Donde:

μ_{RE} = Incertidumbre de resolución

μ_{Lin} = Incertidumbre de la linealidad

2. Incertidumbre del punto de control de calidad (QC):

El punto de control se evalúa para un número determinado de repeticiones de las cuales se obtiene la desviación estándar SD_{QC} .

$$\mu_{QC} = \frac{SD_{QC}}{\sqrt{n}} \quad \text{Ec. 25}$$

Donde:

SD_{QC} = Desviación estandar en el punto de control

Finalmente la incertidumbre combinada para la determinación de la masa es:

$$\mu_M = \sqrt{(\mu_{\text{Pesar}})^2 + (\mu_{\text{Tarar}})^2 + (\mu_{\text{QC}})^2} \quad \text{Ec. 26}$$

$$\mu_M = \sqrt{2 * (\mu_{\text{Tarar}})^2 + (\mu_{\text{QC}})^2} \quad \text{Ec. 27}$$

Donde:

μ_{Tarar} = Incertidumbre de tara y/o pesaje

μ_{QC} = Incertidumbre del punto de control de calidad

3. Incertidumbre de la concentración leída C_L

La concentración leída se ve influenciada por tres fuentes de incertidumbre que son: la solución stock, el QC (punto de control de calidad) y la curva de calibración.

- Incertidumbre de la solución stock

La preparación de la solución stock posee tres fuentes de incertidumbre, la de la solución patrón, la de la pipeta y la del balón volumétrico.

A continuación se definen cada una de las incertidumbres:

- a) Incertidumbre de la solución patrón

Con el certificado del patrón primario su incertidumbre se calcula de la siguiente manera:

Asumiendo una distribución rectangular:

$$\mu_{\text{Pur}} = \frac{a/2}{\sqrt{3}} \quad \text{Ec. 28}$$

Donde:

a = Incertidumbre de la solución patrón

- b) Incertidumbre de la pipeta:

La incertidumbre de la pipeta puede ser calculada por las tres mayores influencias que son: calibración, repetibilidad y temperatura.

- ✓ Calibración: La tolerancia de la pipeta suministrada por el fabricante es de $a/2$, asumiendo una distribución triangular (Si además del conocimiento de los límites superior e inferior hay evidencias de que la probabilidad es más alta para valores en el centro del intervalo y se reduce hacia los límites, puede ser más adecuado buscar la estimación de la incertidumbre en una distribución triangular. Un ejemplo para este caso es la tolerancia de un elemento volumétrico; ya que los valores más cercanos a la media son más probables): *Tolerancia de la pipeta* = $\pm a/2mL$

$$\mu_{Tol} = \frac{a_{Tol} / 2}{\sqrt{6}} \quad \text{Ec. 29}$$

Donde:

a_{Tol} = Incertidumbre de la pipeta

- ✓ Repetibilidad: La variación aleatoria de llenado de la pipeta es estimada mediante un experimento de repetibilidad.

$$\mu_{Repet} = \frac{SD_R}{\sqrt{n}} \quad \text{Ec. 30}$$

Donde:

SD_R = Desviación estandar de n repeticiones

- ✓ Variabilidad del volumen medido por cambios de temperatura durante la medición: Si la temperatura del laboratorio tiene una variabilidad durante el proceso de calibración de $\pm \Delta T$ °C y el coeficiente de expansión térmica del agua (α) es 0.21×10^{-3} °C⁻¹, entonces la variación de volumen está dada por:

$$\pm V \times \Delta T \times \alpha \quad \text{Ec. 31}$$

Convirtiendo a desviación estándar, asumiendo distribución rectangular (Se utiliza cuando cada valor de una medición, en un intervalo dado tiene la misma probabilidad de ocurrencia, es decir, la densidad de probabilidad es constante en éste intervalo, ejemplos

típicos de este tipo de distribución son la resolución de un instrumento digital o la información técnica de tolerancia de un instrumento, entre otros).

$$\mu_{Temp} = \frac{V * \Delta T * \alpha}{\sqrt{3}} \quad \text{Ec. 32}$$

Donde:

V = Volumen medido

ΔT = Variabilidad de la temperatura

α = Coeficiente de expansión térmica

Finalmente la incertidumbre combinada de la micropipeta está definida por:

$$\mu_{VolMicrop} = \sqrt{(\mu_{Tol})^2 + (\mu_{Temp})^2 + (\mu_{Repet})^2} \quad \text{Ec. 33}$$

Donde:

μ_{Tol} = Incertidumbre de la pipeta

μ_{Temp} = Incertidumbre de la variabilidad de la temperatura

μ_{Repet} = Incertidumbre de la repetibilidad de llenado

c) Incertidumbre del Balón Volumétrico:

La incertidumbre del balón volumétrico puede ser calculada por las tres mayores influencias que son: calibración, repetibilidad, y temperatura.

✓ Calibración: La tolerancia balón volumétrico suministrada por el fabricante es de $\pm a$ mL, asumiendo una distribución triangular (ya que los valores más cercanos a la media son más probables): *Tolerancia del balón volumétrico* = $\pm a/2$ mL.

$$\mu_{Tol} = \frac{a/2}{\sqrt{6}} \quad \text{Ec. 34}$$

Donde:

a_{Tol} = Incertidumbre del balón volumétrico

- ✓ Repetibilidad: La variación aleatoria de llenado fue estimada por un experimento de repetibilidad.

$$\mu_{Re\ pet} = \frac{SD_R}{\sqrt{n}} \quad \text{Ec. 35}$$

Donde:

$SD_R =$ Desviación estandar de n repeticiones

- ✓ Variabilidad del volumen medido por cambios de temperatura durante la medición: Si la temperatura del laboratorio tiene una variabilidad durante el proceso de medición de $\pm \Delta T$ °C y el coeficiente de expansión térmica del agua (α) es 0.21×10^{-3} °C⁻¹, entonces la variación de volumen está dada por:

$$\pm V \times \Delta T \times \alpha \quad \text{Ec. 36}$$

Convirtiendo a desviación estándar, asumiendo distribución rectangular.

$$\mu_{Temp} = \frac{V * \Delta T * \alpha}{\sqrt{3}} \quad \text{Ec. 37}$$

Donde:

$V =$ Volumen medido

$\Delta T =$ Variabilidad de la temperatura

$\alpha =$ Coeficiente de expansión térmica

Finalmente la incertidumbre Combinada del balón volumétrico está dada por:

$$\mu_{BalonVolum} = \sqrt{(\mu_{Tol})^2 + (\mu_{Temp})^2 + (\mu_{Re\ pet})^2} \quad \text{Ec. 38}$$

Donde:

$\mu_{Tol} =$ Incertidumbre del balón volumétrico

$\mu_{Temp} =$ Incertidumbre de la variabilidad de la temperatura

μ_{Repet} = Incertidumbre de la repetibilidad de llenado

La incertidumbre de la solución stock termina siendo definida por las siguientes ecuaciones.

$$C_{Stock} = V_{Micropipeta} \times Densidad \times Pureza / V_{Volumétrico} \quad \text{Ec. 39}$$

$$\mu_{Stock} = C_{Stock} \times \sqrt{\left(\frac{\mu_{Pur}}{Pureza}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{Microp}}{VolumenMicrop}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{BalonVolum}}{VolumenBalón}\right)^2} \quad \text{Ec. 40}$$

Donde:

$\mu_{BalonVolum}$ = Incertidumbre del balón volumétrico

μ_{microp} = Incertidumbre de la micropipeta

μ_{pur} = Incertidumbre de la solución patrón

- Incertidumbre del Punto de Control de Calidad (QC)

El punto de control se evalúa para un número determinado de repeticiones de las cuales se obtiene la desviación estándar SD_{QC} :

$$\mu_{QC} = \frac{SD_{QC}}{\sqrt{n}} \quad \text{Ec. 41}$$

Donde:

SD_{QC} = Desviación estandar en el punto de control

- Incertidumbre del Estándar de la Curva de Calibración:

Para cada par de puntos consecutivos de la recta de calibración y determinando la incertidumbre en el centro del intervalo definido por los dos puntos, se obtienen (n-1) incertidumbres para n puntos en la curva de calibración y con estos puntos se realiza una regresión lineal de incertidumbre contra concentración.

$$\mu_{Curva} = \frac{SD_r}{m} * \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{q} + \frac{(x - \bar{x})^2}{S_{XX}}} \quad \text{Ec. 42}$$

$$S_{.xx} = \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \quad \text{Ec. 43}$$

Donde:

$n = p \cdot q =$ Número total de determinaciones.

$q =$ Número de puntos en la curva.

$p =$ Número de determinaciones de cada punto.

$y_i =$ Respuesta para una concentración x_i experimental.

$m =$ Pendiente promedio.

$\bar{x} =$ Concentración media.

$b_o =$ Intercepto promedio.

Finalmente la Incertidumbre Combinada de la Lectura C_L estaría definida por (El resultado de la combinación de las contribuciones de todas las fuentes de incertidumbre, es la incertidumbre estándar combinada $\mu_c(y)$, la cual contiene toda la información esencial sobre la incertidumbre del mensurando):

$$\mu_{C_L} = x \cdot \sqrt{\left(\frac{\mu_{QC}}{QC}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{Stock}}{Stock}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{Curva}}{x}\right)^2}$$

Ec. 44

Donde:

$\mu_{QC} =$ Incertidumbre del punto de control

$QC =$ Concentración del punto de control

$\mu_{Stock} =$ Incertidumbre de la solución Stock

$Stock =$ Concentración de la solución Stock

$\mu_{Curva} =$ Incertidumbre de la curva

$x =$ Concentración a la cual la incertidumbre está siendo calculada

4. Incertidumbre de la recuperación (R).

Se realizaron n ensayos de recuperación obteniéndose una desviación estándar de SD_{REC} y una recuperación del R%.

$$\mu_R(x) = \frac{SD_{REC}}{\sqrt{n}} \quad \text{Ec. 45}$$

Donde:

SD_{REC} = Desviación estandar de recuperación

n = Número de ensayos

Utilizando una prueba de significancia determinamos que tan significativa es la diferencia de la media de recuperación con respecto a 1.

$$t = \frac{|1 - R|}{SD_{REC}} \quad \text{Ec. 46}$$

Donde:

SD_{REC} = Desviación estandar de recuperación

R = Recuperación

Leyendo de las tablas de t-Student para un grado de significancia del $\alpha = 0,05$ y (n-1) grados de libertad encontramos que la hipótesis es verdadera si $t_{Exp} < t_{tabla}$

4.6.2. Incertidumbre para el Reporte Final

De los cálculos anteriores tenemos que:

$$C_T = x = \frac{y - b_0}{m} \quad \text{Ec. 47}$$

Donde:

y = Absorbancia en el punto de control 15ppb

b_0 = Intercepto

m = Pendiente

$$\mu_{C_T} = C_T * \sqrt{\left(\frac{\mu_M}{W}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{C_L}}{x}\right)^2 + \left(\frac{\mu_R}{R}\right)^2} \quad \text{Ec. 48}$$

Donde:

μ_M = Incertidumbre calculada para la determinación de la masa

W = Peso de la muestra

μ_{C_L} = Incertidumbre combinada de lectura

x = Concentración a la cual la incertidumbre está siendo calculada

μ_R = Incertidumbre de recuperación

R = Recuperación

4.6.3. Determinación de la incertidumbre expandida

Para la determinación de la incertidumbre expandida se requiere determinar los grados de libertad efectivos y de acuerdo a esto determinar en la tabla t- student el valor de K, donde:

$$U = \mu_{CT} \cdot K \quad \text{Ec. 49}$$

Dónde:

k = Factor de cobertura de $K = 2$ para un grado de confianza del 95,45%.

4.7. Técnica alternativa de caracterización textural y composicional de la *hopcalita* y el mercurio

Para realizar la caracterización del material adsorbente que capta el mercurio, se utiliza como herramienta la técnica alternativa de microscopía electrónica de barrido y espectroscopía de energía dispersiva rayos X, *SEM-EDX* por sus siglas en inglés; el equipo utilizado para realizar el análisis es de referencia *XL de Phenom-World* [11], con capacidad de aumentos de 100.000X y una resolución de 17 nm por pixel; esto con el fin de demostrar por medio de imágenes y balance de masas si la desorción del

contaminante se realiza por completo y si se conserva la composición estructural de la *hopcalita* después de realizado el análisis [12].

Para demostrarlo se analizan *hopcalita* blanco de muestreo, *hopcalita* analizadas y *hopcalita* que ya contienen el elemento fisi-sorbido y así determinar que el método desarrollado, además de que cumple con todos los parámetros estadísticos, cumple la desorción completa del elemento que se desea analizar.

4.8. Determinación de la aplicabilidad

El término aplicabilidad se utiliza cuando el método analítico desarrollado puede utilizarse para el tipo de muestras, matrices y concentraciones que se necesitan, es decir que los límites de detección no superen a los límites máximos permitidos, sea para el campo ambiental o para el campo ocupacional.

En esta investigación se quiere demostrar que al realizar el análisis de las muestras captadas en *la hopcalita*, por lectura directa sin digestión de la muestra, se puede obtener un método con un límite de detección inferior a los ya establecidos por los organismos de control, ya sean ocupacionales o ambientales y que además este método es confiable, porque cumple con todos los criterios estadísticos de validación.

Se debe realizar una declaración del margen de funcionamiento satisfactorio para cada factor, donde se hable de las interferencias de otros analitos o de condiciones que limiten los buenos resultados del método [9].

4.9. Pruebas en muestras reales

Al validar el método propuesto, se busca aplicarlo al estudio de muestras reales, tomadas en diferentes ambientes ocupacionales, como son minas de explotación de oro y fabricación de joyas de oro.

Bibliografía

- [1]. Milestone. DMA-80 Analizador directo de mercurio. Análisis de mercurio de 5 minutos sin preparación de muestra. Catalogo Milestone. (2015)
- [2]. OHAUS. Balanzas Ohaus Discovery Manual de instrucciones. (2014) ES-44
- [3]. NIOSH. Mercury. Method 6009. Second revisión. *National Institute for Occupational Safety and Health*. (1994)
- [4]. AENOR. Calidad del agua. Determinación del mercurio por espectrometría de fluorescencia atómica. Norma Española UNE-EN 13506. (2002).
- [5]. Gómez-Ariza, J.L., Morales, E., Sánchez-Rodas, D., Giráldez, I. Stability of chemical species in environmental matrices. *Trends in Analytical Chemistry*. Vol. 19 (2000) 200-209.
- [6]. Milestone. Tips and Techniques for DMA-80 with T640/1640 and PC software rev. 02 A or higher Milestone Srl – Helping Chemists. (2015)
- [7]. DMA-80 Direct Mercury Analyzer. Application Book. PC/T640/1640 rev. 02 A or higher Milestone Srl – Helping Chemists. (2015).
- [8]. IUPAC. Harmonized Guidelines for Single Laboratory Validation of Methods of Analysis. *Pure Appl. Chem.*, Vol. 74 (2002) 835–855.
- [9]. D. Ahumada Forigua. I. González Cárdenas. A. Peralta Bohórquez. Validación de métodos en análisis químico cuantitativo. Instituto Nacional de Metrología. Colombia (2014).

- [10]. JCGM 100. Evaluation of measurement data — Guide to the expression of uncertainty in measurement. (2008).
- [11]. Phenom World. Actualizado: 1 de Enero de 2016. [Fecha de consulta 24 mayo 2016]. Disponible en: www.phenom-world.com.
- [12]. F. N. Allouchea. E. Guibal. N. Mameri. Preparation of a new chitosan-based material and its application for mercury sorption. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. (2014). Pag 224-232.

5. Resultados y discusiones

En este capítulo se exponen los resultados obtenidos durante la validación del método analítico, mediante la comprobación experimental de las características significativas del método y además se expone la validez para el tipo de muestras que se analiza.

La interpretación de los resultados se realiza mediante cálculos de la concentración que emite el equipo *DMA 80* por medio de la extrapolación de la absorbancia vs concentración y así abarcar el protocolo de la validación específica para verificar el cumplimiento de los parámetros de la validación de este método analítico que tiene como ventaja que las muestras no necesitan pretratamiento de muestras, realizando un análisis directo.

5.1. Parámetros experimentales

En la tabla 4.3, del anterior capítulo se pueden observar los parámetros instrumentales, utilizados para realizar la validación del método; tomándose como base las recomendaciones realizadas en el libro de aplicaciones de *Milestone Srl* [1].

Se utiliza oxígeno puro como gas de arrastre con una presión de entrada de 60 PSI y una velocidad de flujo de 200 ml/min. El equipo utiliza dos curvas de calibración, de alto rango y de bajo rango y en este caso se realiza la calibración en un rango de 0 – 900 µg/l, para así abarcar concentraciones bajas y altas [2].

Se pesan 0.1 g de cada una de las muestras (*hopcalita*) en la balanza analítica OHAUS DISCOVERY modelo DV215CD, sobre las celdas de cuarzo y posteriormente son introducidos los pesos de las muestras en el equipo. Las muestras se llevan al equipo en cada una de las posiciones que les corresponde y el primer paso es llevarlas a la temperatura de secado, para posteriormente ser descompuestas térmicamente, liberándose el mercurio para ser cuantificado por absorción atómica.

5.2. Resultados protocolo de validación

5.2.1. Linealidad

Dado que el equipo fija dos rangos de trabajo, los cuales cumplen con la ley de Beer:

3. Rango bajo: 0 -20 ng Hg
4. Rango alto: 20 -1000 ng Hg.

Se trabaja con una curva de calibración que inicia desde el rango más bajo (concentración en $\mu\text{g/l}$ de cero), hasta una concentración alta con un valor aproximado de 900 $\mu\text{g/l}$.

Para demostrar que la linealidad es real para el rango de trabajo escogido, se realizaron varias pruebas preparando 6 curvas de diferentes concentraciones: 0, 5, 10, 15, 20, 40, 300, 600, 900 $\mu\text{g/l}$ de Hg y cada una de estas curvas se analizó en el equipo *DMA-80*, obteniéndose los siguientes resultados para la celda 1, es decir rango bajo (ver Figura 5.1).

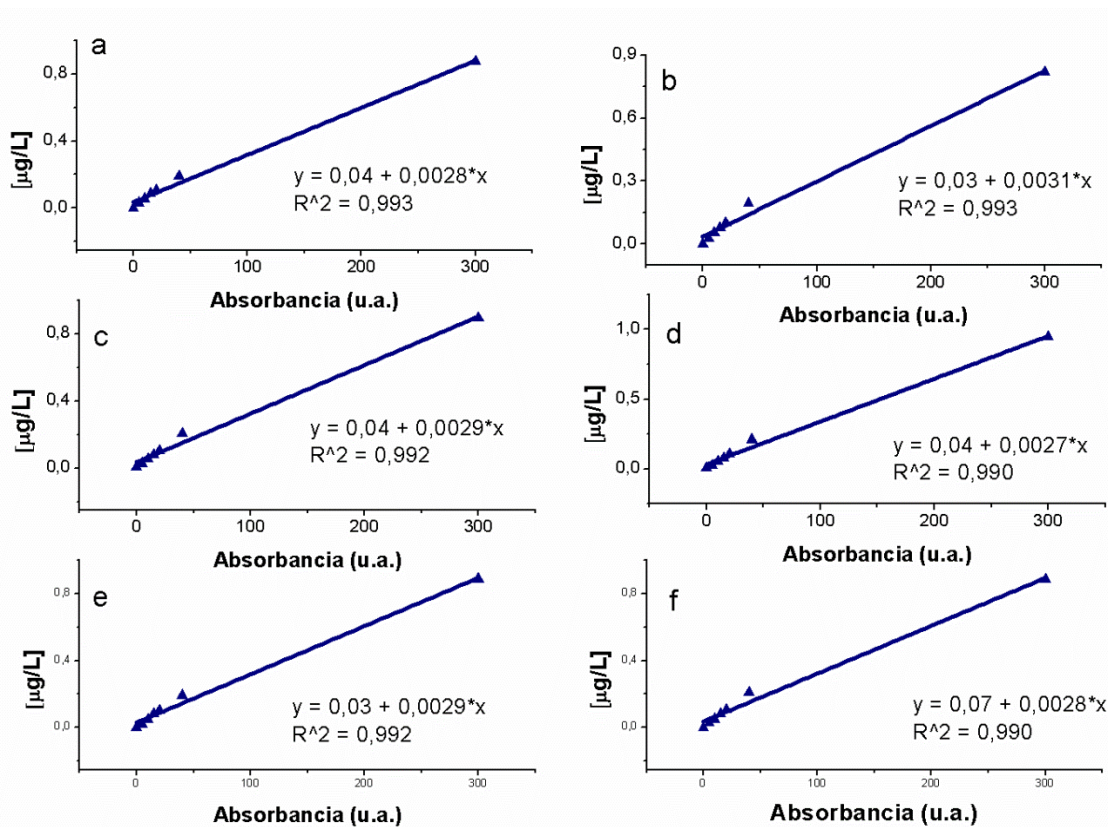


Figura 5.1. Curvas de calibración celda 1

En cuanto la celda 2, se obtuvieron los resultados mostrados en la tabla 5.1:

Tabla 5.1. Resultados celda 2

Curva	R ²	Pendiente	Intercepto
1	0,996	0,0001	0,0000
2	0,999	0,0001	0,0000
3	0,999	0,0001	0,0000
4	0,999	0,0001	0,0000
5	0,999	0,0001	0,0000
6	0,999	0,0001	0,0000
Promedio	0,999	0,0001	0,0000

Se realiza un análisis estadístico con el fin de determinar si la curva de calibración obtenida es estadísticamente aceptable, para ello se hace en primera instancia una prueba de regresión que consiste en realizar un análisis de varianza ANOVA, obteniéndose un valor $F_{calculado} = 1.094$ y un $F_{tabulado} = 2.449$ (Ver anexo I) de esta manera la prueba de hipótesis estableció los siguientes criterios de aceptación para la regresión, donde:

Ho: Cantidad de $\mu g/l$ y absorbancia se relacionan linealmente.

H1: Cantidad de $\mu g/l$ y absorbancia no se relacionan linealmente.

$$F_{calculado} < F_{tabulado}, \text{ se acepta la Hipótesis nula [3,4]}$$

Los resultados concluyen que existe una relación lineal entre las variables analizadas.

También se verifica que el coeficiente de correlación (R), cumpla con la condición que: $R^2 > 0.990$, lo cual se observa para todas las curvas de calibración leídas en el equipo, que demuestra que el rango escogido, se comporta linealmente.

Otros parámetros a los que se les debe de realizar estudios estadísticos son la pendiente y el intercepto y esto se hizo después de que se confirma la linealidad con los resultados anteriores.

Para el caso del intercepto se debe demostrar si es un valor cercano a cero y esto se realiza haciendo la siguiente prueba de hipótesis.

Ho: El valor del intercepto es cercano a cero

H1: El valor del intercepto no es cercano a cero

$$t_{exp} < t_{v,\alpha}, \text{ Se acepta hipotesis nula [3,4]}$$

Finalmente el resultado del (t. experimental) es, $t_{exp} = 2.439$ y el (t. tabulado), reportado en las tablas del anexo II es $t_{v,\alpha} = 2.571$, con lo cual se acepta la hipótesis nula y se demuestra que el valor del intercepto es cercano a cero.

Ya para la pendiente se debe demostrar que el valor de la pendiente es significativamente diferente de cero y se utilizan las siguientes hipótesis.

Ho: El valor de la pendiente no es significativamente diferente de cero

H1: El valor de la pendiente es significativamente diferente de cero

$$t_{exp} > t_{v,\alpha}, \text{ Se rechaza la hipotesis nula [3,4]}$$

El resultado del (t. experimental) es, $t_{exp} = 20.982$ y el (t. tabulado), reportado en las tablas del anexo II es $t_{v,\alpha} = 2.571$, con lo cual se rechaza la hipótesis nula y se demuestra que el valor de la pendiente es significativamente diferente de cero y el método responde a los cambios de concentración.

5.2.2.Exactitud

a) Precisión del sistema

Con los datos de las curvas de calibración que se realizan en la linealidad, se calcula la desviación estándar y el coeficiente de variación (%RSD). De las respuestas obtenidas para cada concentración se verifica que el $\%RSD < 15\%$. Como se define en el capítulo anterior entre más cercano sea el valor de la concentración a cero, más cercano será el valor al coeficiente de variación (%RSD) definido.

Tabla 5.2. Resultados de la determinación de la precisión del sistema

Concentración ($\mu\text{g/l}$)	% RSD
5	14.36
10	4.24
15	3.71
20	3.37
40	4.74
300	3.47
600	5.27
900	1.96

b) Precisión del método

• Repetibilidad:

1. Se prepara tres estándares de la curva de calibración ya establecida, con concentración alta (300 ($\mu\text{g/l}$)), media (20 ($\mu\text{g/l}$)) y baja (5 ($\mu\text{g/l}$)).
2. Se realizan seis lecturas de cada estándar y cada uno se lee seis veces, en total se obtuvieron 30 lecturas de cada uno y se registraron los resultados emitidos.
3. Se calcula el promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación de las absorbancias obtenidas.
4. Se calcula el % RSD empleando la ecuación de Horwitz: $\%RSD^* = 2^{(1-0.5\log C)}$ [3].
5. Para establecer repetibilidad, se verifica que: $\% RSD < \% RSD^*/2 = (2^{(1-0.5 \log C)})/2$ como se puede observar en la tabla 5.3, el método es repetible.

Tabla 5.3. Resultados de Determinación de la Repetibilidad

Concentración ($\mu\text{g/l}$)	%RSD	% RSD*/2 (Ecuación de Horwitz)
5	5.26	8.88
20	3.05	5.10
300	0.61	3.39

- Precisión intermedia
 1. Se analiza un estándar de concentración intermedia no evaluado en la repetibilidad (15 ppb) durante tres días diferentes, se realizan seis lecturas de la misma muestra en total se obtuvieron 18 lecturas.
 2. Se calcula el promedio, la desviación estándar, el coeficiente de variación de las respuestas obtenidas en los diferentes días.
 3. Se verifica que: $\% RSD < 5\%$ en el día
 $\% RSD < 5\%$ entre días
 4. Se verifica que: $\% RSD < (2/3)\% RSD^* = (2^{(1-0.5 \text{Log}C)}) (2/3)$

Tabla 5.4. Resultados de la Determinación de la precisión intermedia

Variables	Día 1	Día 2	Día 3
Media ($\mu\text{g}/\text{l}$)	16.22	14.63	14.58
SD	0.58	0.43	0.28
%RSD	3.56	2.94	1.90
Media Días ($\mu\text{g}/\text{l}$)	15.14		
SD Días	0.15		
%RSD Días	0.99		
$(2/3)\% RSD^*$	7.10		

Como se puede observar en la tabla 5.4 el método cumple con todos los parámetros de precisión intermedia, es decir la dispersión de resultados no varía entre ensayos mutuamente independientes (diferentes días)

- Veracidad
 1. Se preparan tres estándares de la curva de calibración con concentraciones de 30, 40 y 50 $\mu\text{g}/\text{l}$.
 2. Se utilizan muestras captadas en filtros de *hopcalita* de una sola sección, libre de exposición al Mercurio.

3. Se miden 0.5 ml de los estándares intermedios y 0.5 ml de la solución a determinar la veracidad, quedando al final concentraciones de 15, 20 y 25 $\mu\text{g/l}$.
4. Se calcula los porcentajes de recuperación y se obtienen los resultados mostrados en la tabla 5.5.

Tabla 5.5. Resultados de la determinación del porcentaje de recuperación

Variables	Concentración baja	Concentración media	Concentración alta
Valor verdadero ($\mu\text{g/l}$)	15.00	20.00	25.00
Valor promedio ($\mu\text{g/l}$)	14.54	22.14	25.67
Porcentaje de recuperación	96.94	110.72	102.68
Límite inferior (%)	60	60	60
Límite superior (%)	115	115	115

En los tres casos cumple la veracidad del método ya que los porcentajes de recuperación debían estar dentro del límite inferior y el superior, datos que fueron tomados de la *Association of Oficial Analytical Chemists* (AOAC) en función de la concentración evaluada, como se describe en el capítulo de la metodología.

Además, se realiza una prueba de hipótesis en la cual se obtuvo un valor de $t_{exp} = |1.623|$ y un $t_{crítico} = 2.306$ (anexo II), de esta manera la prueba de hipótesis estableció unos criterios de aceptación para evaluar la exactitud dónde:

H_0 : El método es veraz

H_1 : El método no es veraz

$$t_{exp} \leq t_{crítico} \quad \text{Se acepta hipótesis nula}$$

Con lo cual se acepta la hipótesis nula y se demuestra que el método es veraz.

5.2.3. Sensibilidad

- a) Factor de sensibilidad

Se verifica que el coeficiente de variación total del factor de sensibilidad (*%RSD Factor de sensibilidad*) no superara el 5%, obteniéndose como resultados:

$$\%RSD \text{ Factor de sensibilidad} = 3.69, \text{ para la celda 1}$$

$$\%RSD \text{ Factor de sensibilidad} = 3.00, \text{ para la celda 2}$$

Cumpléndose con la premisa anteriormente expuesta.

b) Límite de detección y cuantificación del blanco de reactivos

Los límites de detección y cuantificación del blanco de reactivos son de $0.012 \mu\text{g/l}$ y $0.039 \mu\text{g/l}$

c) Límite de detección (LD) y límite de cuantificación (LC) para la determinación de la mínima concentración detectada por el equipo y por el método analítico

Los límites de detección y cuantificación del equipo y el método analítico desarrollado para análisis de muestras captadas en filtros de *hopcalita* se muestran en la tabla 5.6.

Tabla 5.6. Resultados del límite de detección y cuantificación para la determinación de la mínima concentración detectada por el equipo y el método analítico

Equipo		Mercurio en fase de vapor captados en filtros de <i>hopcalita</i>	
		LD ($\mu\text{g/g}$)	LC ($\mu\text{g/g}$)
LD ($\mu\text{g/g}$)	LC ($\mu\text{g/g}$)	LD ($\mu\text{g/g}$)	LC ($\mu\text{g/g}$)
0.005	0.017	0.008	0.026

A la mínima concentración detectada por el equipo se valida el límite de detección realizando pruebas de repetibilidad y precisión intermedia.

Para el caso de la repetibilidad se verifica que: $\% RSD < \% RSD^*/2 = (2^{(1-0.5 \text{ Log}C)})/2$, obteniéndose un $\% RSD = 0.050$ y $\% RSD^*/2 = 5.657$; estos es para el límite de detección obtenido para el equipo; ya para el método analítico se obtuvo los siguientes resultados: $\% RSD = 0.059$ y $\% RSD^*/2 = 5.322$.

Con esto se demuestra que el límite de detección para ambos casos es repetible.

La precisión intermedia, también se evalúa y se verifica que:

$\% RSD < (2/3)\% RSD^* = (2^{(1-0.5 \text{ Log}C)}) (2/3)$, los resultados obtenidos se muestran en la tabla 5.7 y 5.8. Se demuestra que la dispersión de resultados no varía entre ensayos mutuamente independientes (diferentes días).

Tabla 5.7. Resultados de la determinación de la precisión intermedia para el límite de detección del equipo

Variables	Día 1	Día 2	Día 3
Media ($\mu\text{g}/\text{l}$)	10.00	9.73	9.85
SD	0.005	0.16	0.12
$\%RSD$	0.05	1.60	1.26
Media Días ($\mu\text{g}/\text{l}$)	9.86		
SD Días	0.138		
$\%RSD$ Días	1.404		
$(2/3)\% RSD^*$	7.542		

Tabla 5.8. Resultados de la determinación de la precisión intermedia para el límite de detección del método analítico

Variables	Día 1	Día 2	Día 3
Media ($\mu\text{g}/\text{l}$)	14.13	15.11	14.51
SD	0.08	0.12	0.35
$\%RSD$	0.59	0.77	2.45
Media Días ($\mu\text{g}/\text{l}$)	14.58		
SD Días	0.50		
$\%RSD$ Días	3.40		
$(2/3)\% RSD^*$	7.10		

5.2.4. Selectividad

Se determina la selectividad adicionando varias interferencias; en este caso metales como: plomo, cobre, cromo, aluminio, plata, zinc, cadmio, níquel, hierro y manganeso en igual concentración.

La selectividad se cumple en todos los casos, ya que todos los porcentajes de recuperación están dentro de los límites superiores e inferiores establecidos por

la AOAC, luego se puede concluir que el método no se ve afectado por los diferentes metales con los que se doparon las muestras.

Tabla 5.9. Resultados de la selectividad

45 µg/l Hg + Interferencias	Interferencia	% Recuperación	Límite inferior (%)	Límite superior (%)
45,34 (Cr, Al)	0,34	100,76	60	115
45,87 (Zn, Cd)	0,87	101,93	60	115
46,21 (Cu, Ni)	1,21	102,70	60	115
46,08 (Fe, Mg)	1,08	102,39	60	115
46,61 (Ag)	1,61	103,58	60	115

Se puede presentar una mayor interferencia con metales como plata, hierro y cobre; debido a que se amalgaman con el mercurio. En este caso se demuestra porque los valores obtenidos están más cercanos al límite superior establecido por la AOAC, sin embargo se encuentra dentro del límite, por lo que el método sigue siendo selectivo.

5.3. Incertidumbre

Se realiza la identificación de las fuentes de incertidumbre con la aplicación del método de espina de pescado, como se ilustra en la metodología [5].

Después de realizar todos los cálculos, referenciados en el anexo III, se obtuvo la incertidumbre expandida con un valor de $K=2$, para un grado de confianza del 95,45%, de $0.079 \mu\text{g/Kg}$.

5.4. Determinación de la aplicabilidad

El límite de detección (LD) obtenido al desarrollar este método analítico para análisis de mercurio metálico en fase de vapor, captado sobre filtros de *hopcalita* es de aproximadamente 0.009 mg/m^3 ; esto es suponiendo condiciones estándar (ver tabla 5.10).

Tabla 5.10. Densidad suponiendo condiciones estándar

LD ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	LD (mg/kg)	*LD (mg/m^3)
7,658	0,008	0,009

*La densidad se calcula a condiciones estándar Ver anexo IV

Se puede concluir que la aplicabilidad del método, teniendo en cuenta los límites permisibles presentados por diferentes organismos de control internacionales es aplicable a ambientes ocupacionales, cumpliendo con un valor inferior de los presentados por los organismos de controles tales como: Occupational Safety and Health Administration (OSHA), National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH), *American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH)*.

Como se aclara inicialmente los parámetros de muestreo que se utilizaron son los ya establecidos por la norma *National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) 6009*, donde se hace referencia a todos los límites permisibles mencionados anteriormente y estos se cumplen en el nuevo método de análisis desarrollado, el cual a diferencia del método químico utilizado por la norma no necesita de pretratamiento de muestra, teniendo como ventaja menor posibilidad de pérdida de muestra o contaminación por los reactivos que se utilizan durante el proceso.

El método ya validado cumple con todos los parámetros analizados a lo largo de este trabajo, los cuales fueron: linealidad, exactitud, precisión, reproducibilidad, repetibilidad y selectividad y posee un rango de trabajo de $0.05 - 900 \mu\text{g}/\text{l}$, utilizando matriz ácida (ácido nítrico al 5%) para la construcción de la curva de calibración. Este método se ve afectado con metales como oro, platino, plata y cobre; debido a que se amalgaman con el mercurio reducido, pero los porcentajes de recuperación están dentro de los límites superiores e inferiores establecidos por la AOAC, por lo que sigue siendo un método confiable.

Si se realiza una comparación con el método analítico utilizado en la *NIOSH 6009*, el cuál necesita pretratamiento de muestra y es el utilizado actualmente para el análisis de mercurio en fase de vapor captado en filtros de *hopcalita*, se puede concluir que las dos métodos analíticos son comparables y que el rango del método desarrollada es más amplio, teniendo límites de detección más bajos.

Tabla 5.11. Comparación del método analítico desarrollado con el utilizado en la norma *NIOSH 6009* [6]

Parámetros estadísticos	Técnica analítica norma <i>NIOSH 6009</i>	Técnica analítica desarrollada
Rango (μg)	0.1 a 1.2	0.05 a 9
LD (μg)	0.03	0.001

También podemos compararlo con el método para análisis de mercurio elemental en fase de vapor, en la cual se utilizan sensores, basado en el principio de cambios de resistividad, mostrándose límites de detección mayores al método desarrollado [7].

Ya si se realiza comparación con métodos analíticos que utilizan medios de captación como, por ejemplo; el análisis por activación neutrónica (INAA), que utiliza filtros de teflón los límites de detección son más altos para esta técnica que para la método desarrollado [8,9].

5.5. Verificación textural y estructural de la hopcalita. Análisis desorción del mercurio

Tal como se demuestra con los cálculos de los parámetros estadísticos y la incertidumbre, los resultados obtenidos establecen que el método desarrollado es preciso, confiable y que es aplicable a los ambientes ocupacionales, por sus límites de detección.

Esta investigación se centró en el desarrollo de un método para la determinación de mercurio elemental, ya que el material de captación se encuentra validado por la norma *NIOSH 6009*, y no hace parte de esta investigación centrarse en el método de captura sino en el método de análisis.

Sin embargo, es necesario comprobar que el método de captación no afecta la medición del mercurio en el equipo que se utiliza como herramienta de análisis *DMA-80 Milestone*, es decir, que por tratarse de un material poroso, capta el mercurio por un proceso de adsorción y se lee la totalidad del mismo garantizándose estadísticamente que el mercurio se desorbe por completo de la *hopcalita*.

El primer ensayo realizado analiza la *hopcalita* blanco de muestreo, la *hopcalita* con muestra y la *hopcalita* analizada (Muestra recuperada después de ser sometida al método de análisis desarrollado). En la primera y última muestra no se encuentran resultados de mercurio, es decir, que a raíz de la incertidumbre del equipo, se concluye que el mercurio fue analizado en su totalidad en la muestra que contiene el metal de interés.

Una verificación real de este análisis se hace con una técnica complementaria de superficie microscopía electrónica de barrido con caracterización de superficie, *SEM-EDX*, la cual permite observar claramente la superficie desde el punto de vista textural y realizar un análisis composicional para evidenciar cuantitativamente presencia/ausencia de mercurio en las muestras.

En las figuras 5.2, 5.3 y 5.4, se muestran las imágenes SEM de la *hopcalita*, evidenciándose una superficie rugosa, características de los óxidos mixtos tipo cuprita (CuO), óxido de manganeso, entre otros, siendo superficies irregulares, porosas y con tamaño de poro variable [10].

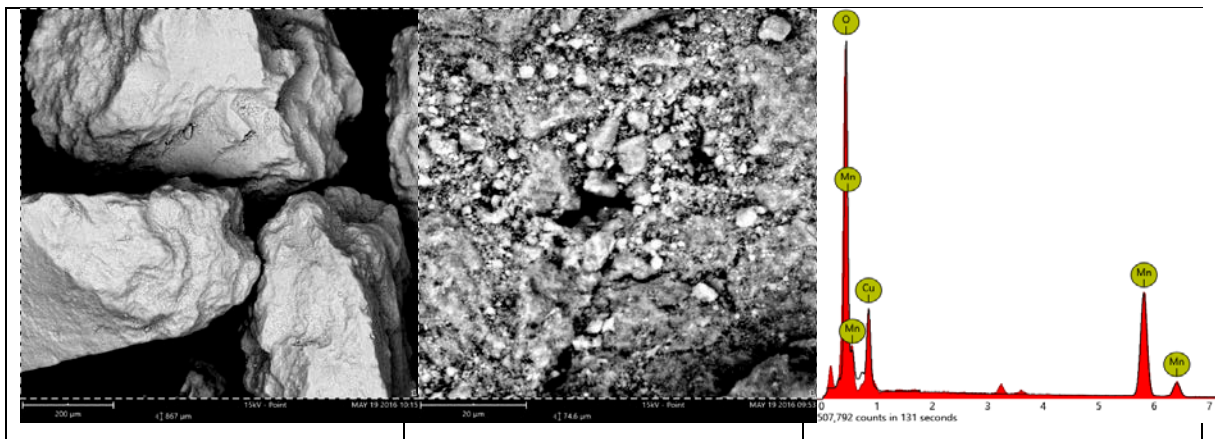


Figura 5.2. *Hopcalita* blanco de muestreo

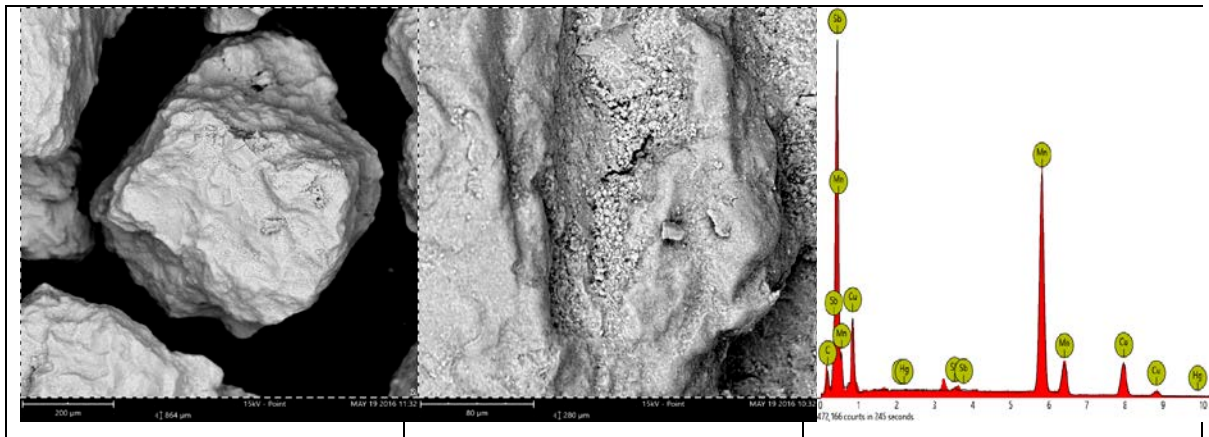


Figura 5.3. Hopcalita con mercurio

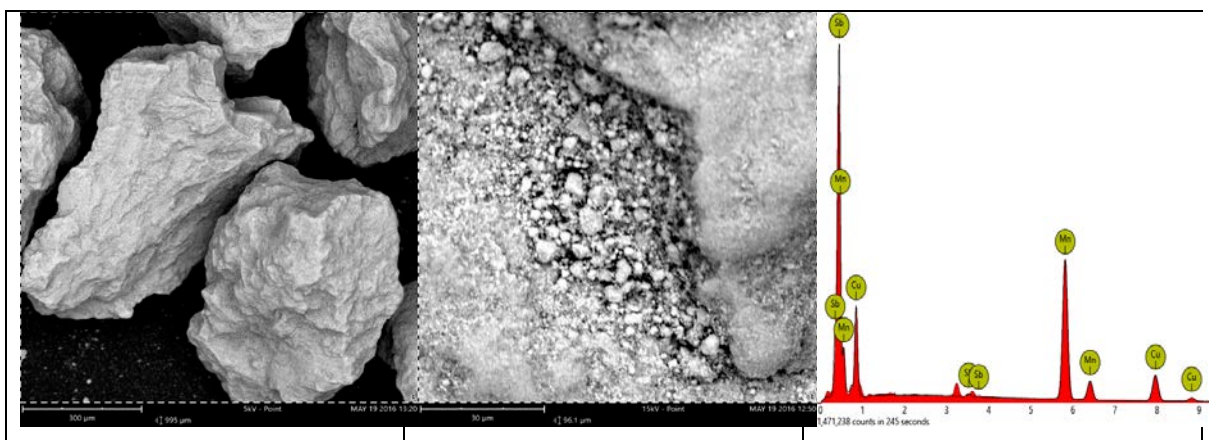


Figura 5.4. Hopcalita analizada

Las otras figuras donde se encuentra el mapeo de los elementos más importantes que constituyen la superficie de las muestras de *hopcalita* se pueden observar en el anexo V, donde se evidencia claramente la ausencia de mercurio en las muestras de *hopcalita* blanco de muestreo y analizada, tal como se esperaba según los resultados de validación obtenidos con el equipo *DMA-80*.

En la tabla 5.12, se muestra la composición elemental de la superficie de las tres muestras, donde los resultados reportados corresponden al análisis multi-punto de cada muestra para corroborar la información. Se centró especial cuidado en los elementos constituyentes de la superficie (Mn, O y Cu) y el elemento a analizar, despreciándose las trazas. Se validó la calidad de los resultados al cerrarse el balance de masa de los elementos. El informe *SEM* completo se encuentra en el anexo V.

El análisis composicional muestra que en promedio la *hopcalita* presenta un 33% de oxígeno, un 43% de manganeso y un 24% de cobre aproximadamente y los demás

elementos posibles se constituyen como trazas (Antimonio, carbono, nitrógeno, yodo y telurio) visibles en el anexo V.

En la muestra con mercurio se realizó el análisis de un poro de *hopcalita* con mercurio fisi-sorbido, donde se evidencia la contribución principal de este elemento, debido a que literalmente “llena” el poro, sin embargo se comprueba que los demás elementos conservan la proporción estructural de la superficie (ver columna de concentración corregida sin mercurio en la tabla 5.12).

En relación a la *hopcalita* analizada y después del análisis estructural multi-punto, se evidencia la total ausencia del mercurio y que la superficie no cambió su composición elemental (ver tabla 5.12), demostrándose que la desorción de la muestra se realiza por completo, y esto se verifica al obtenerse resultados similares entre la *hopcalita* blanco de muestreo y la *hopcalita* analizada, lo cual está de acuerdo con las conclusiones del método validado.

Tabla 5.12. Resultados de caracterización superficial de las muestras

<i>Hopcalita blanco de muestreo</i>		
Elemento	Concentración P/P	Concentración corregida
Oxígeno	31,46	32,27
Manganeso	42,34	43,43
Cobre	23,68	24,29
<i>Hopcalita con mercurio</i>		
Elemento	Concentración P/P	Concentración corregida sin mercurio
Oxígeno	7,50	37,13
Manganeso	9,00	44,55
Cobre	3,70	18,32
Mercurio	78,80	
<i>Hopcalita analizada</i>		
Elemento	Concentración P/P	Concentración corregida
Oxígeno	29,20	30,32
Manganeso	43,20	44,86
Cobre	23,90	24,82

5.6. Pruebas en muestras reales

Una vez validado el método propuesto para la determinación de mercurio elemental y de demostrar por medio de *SEM-EDX*, la desorción completa del mercurio captado, este se aplica al estudio de muestras reales. Las muestras analizadas corresponden a un sitio donde se fabrican joyas con oro y una mina de explotación de oro (los cuales por motivos de confidencialidad no se mencionan sus nombres en el presente estudio), ambas ubicadas en el Departamento de Antioquia, utilizando el método de muestreo de la norma de la *National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) 6009* y como medio de captación tubos de *hopcalita*, para los cuales se realiza la validación del método en estudio. Las muestras de la mina de oro procedían de una zona expuesta a la contaminación por mercurio, ya que en el sitio se comprueba la utilización de este en la extracción del material y por otro lado en el sitio de fabricación de joyas de oro no se observa la utilización del metal, aunque no se descarta el uso del mercurio en el proceso. De esta manera se evalúa la aplicabilidad del método desarrollado a un estudio de muestras reales, incluyendo los blancos de muestreo.

Las muestras fueron recibidas en los medios de captación *hopcalita* en el laboratorio y fueron almacenadas a temperaturas inferiores a 8°C para evitar pérdida de muestras por desorción, hasta que se realizara su análisis. Posteriormente se pesa 0.1g de cada muestra por duplicado, para realizar el análisis con el método ya validado.

Tabla 5.13. Contenidos de mercurio elemental de las muestras tomadas en el sitio de fabricación de joyas con oro

Muestra	Hg elemental ($\mu\text{g/g}$)
Hg5	4.775 \pm 0.377
Hg3	0.267 \pm 0.021
Hg4	0.542 \pm 0.043
Hg7 (Blanco de muestreo)	N.D*

(*N.D: no detectable)

Tabla 5.14. Contenidos de mercurio elemental de las muestras tomadas en la mina de explotación de oro

Muestra	Hg elemental ($\mu\text{g/g}$)
Hg19	2.955 ± 0.233
Hg20	0.716 ± 0.057
Hg21	0.974 ± 0.077
Hg22	0.151 ± 0.012
Hg25 (Blanco de muestreo)	N.D*

(*N.D: no detectable)

Para confirmar la fiabilidad de estos análisis, se utilizaron blancos de muestreo, los cuales reportaron resultados no detectables, como se observa en la tablas 5.13 y 5.14 por el método desarrollado, además se realizó análisis de blancos de reactivos y de un control intermedio con un patrón con concentración conocida, obteniéndose resultados favorables para todos los casos.

Todos los resultados están por encima del límite de detección ($0.008\mu\text{g/g}$), excepto para el blanco de muestreo, tal como se esperaba.

Ya si se realiza una aproximación a condiciones estándares, como se muestra en las tablas 5.15 y 5.16, también se puede concluir que las muestras están por encima del límite de detección (0.009 mg/m^3), excepto para el blanco de muestreo.

Tabla 5.15. Contenidos aproximados de mercurio elemental de las muestras tomadas en el sitio de fabricación de joyas con oro

Muestra	Hg elemental (mg/m³)
Hg5	5.634
Hg3	0.315
Hg4	0.640
Hg7 (Blanco de muestreo)	*N.D

(*N.D: no detectable)

Tabla 5.16. Contenidos aproximados de mercurio elemental de las muestras tomadas en la mina de explotación de oro

Muestra	Hg elemental (mg/m³)
Hg19	3.449
Hg20	0.807
Hg21	1.112
Hg22	0.178
Hg25 (Blanco de muestreo)	*N.D

(*N.D: no detectable)

Al realizar una comparación con el valor de referencia de la *American Conference of Governmental Industrial Hygienists 2015 (ACGIH 2015)*, el cual se utiliza a nivel de ambientes ocupacionales, para contaminantes como mercurio y que está definido como concentración máxima permisible (*TLV*), de su sigla en inglés, se reporta un valor de 0.025 mg/m³ [11], que al compararse con los resultados obtenidos para el sitio de

fabricación de joyas y la mina de explotación de oro, se observan valores por encima de este, exceptuando como es de esperarse para los blancos de muestreo; concluyendo que el ente encargado de regular debe de recomendar controles al sitio de trabajo que ayuden a evitar posibles afectaciones para la salud de los trabajadores.

Finalmente se puede observar como el desarrollo de este método analítico, puede ser utilizada a nivel ocupacional, ayudando al desarrollo de la investigación en este campo en el país, tan necesario en este momento, por la crisis ambiental y de salud que se está enfrentando por el mal manejo del mercurio en las explotaciones de metales preciosos como el oro y que se puede constituir en un gran apoyo para realizar estos tipos de análisis en Colombia, sin necesidad de incurrir en costos y tiempos de transportes muy elevados que aumentan la posibilidad de contaminación de las muestras o pérdida y además también se pueden asegurar resultados confiables, porque las muestras no necesitan pretratamiento.

Adicionalmente en el país no se encuentran laboratorios que realicen este tipo de análisis con métodos validados para muestras de mercurio en fase de vapor captadas en filtros de *hopcalita* y de ahí la dificultad de realizar pruebas interlaboratorios, para realizar comparación de resultados.

Bibliografía

- [1]. DMA-80 Direct Mercury Analyzer. Application Book. PC/T640/1640 rev. 02 A or higher Milestone Srl – Helping Chemists. (2015).
- [2]. J. Sánchez Londoño. Evaluación de la concentración de mercurio en diversas marcas de atún enlatado comercializadas en la ciudad de Cartagena de Indias. Tesis de maestría Universidad Nacional de Colombia. (2011).
- [3]. D. Ahumada Forigua. I. González Cárdenas. A. Peralta Bohórquez. Validación de métodos en análisis químico cuantitativo. Instituto Nacional de Metrología. Colombia (2014).
- [4]. Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición. “Aspectos generales sobre la validación de métodos” Pag 11. Instituto de Salud Pública de Chile. (2010).
- [5]. JCGM 100. Evaluation of measurement data — Guide to the expression of uncertainty in measurement. (2008).
- [6]. NIOSH Manual of Analytical Methods, 4ta. ed., Method 6009. (1994)
- [7]. B. Mazzolai, V. Mattoli, V. Raffa, G. Tripoli, D. Accoto, A. Menciassi, P. Dario. . A microfabricated physical sensor for atmospheric mercury monitoring Sens. Actuators, A 113 (2004) 282.
- [8]. Osawa, T., Hatsukawa , Y., Appel, P. W. U., (2011). Mercury and gold concentrations of highly polluted environmental samples determined using prompt gamma-ray analysis and instrument neutron activation analysis. Nuclear instrument and methods and physics Reasearch Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms 269, 717-720.
- [9]. Pandey, S. K., Kim, K. H., Brown, R.J. C. Measurement techniques for mercury species in ambient air. Trends in Analytical Chemistry 30, (2011). 899-917.
- [10]. A. Stadler, G. Benstetter. Analysis of Microelectronic Materials. (2012)

[11]. TLVs® and BEIs® Threshold Limit Values for Chemical Substances and Biological Exposure Indices. (2015) ACGIH.

6. Conclusiones y recomendaciones

6.1. Conclusiones

En este trabajo se ha desarrollado un método analítico confiable, preciso, sencillo y versátil que no necesita pretratamiento de muestra, para la determinación de contenidos de mercurio elemental en muestras atmosféricas, utilizando como medio de captación filtros de *hopcalita* y un analizador de mercurio directo (*DMA-80 Milestone*); el cual emplea el principio de descomposición térmica, amalgamación y absorción atómica, con un flujo continuo de oxígeno.

La validación experimental del método analítico permitió demostrar la confianza y validez del método con la evaluación de parámetros como: linealidad, exactitud, sensibilidad, límite de detección, límite de cuantificación, selectividad e incertidumbre, y también permitió demostrar que la metodología analítica puede ser usada para la cuantificación de mercurio elemental en fase de vapor en muestras atmosféricas.

Se demostró por medio de un análisis complementario de microscopía electrónica de barrido con caracterización de superficie, *SEM-EDX*, que el mercurio captado es desorbido por completo, después de realizar el análisis para la determinación de mercurio y que la composición de la *hopcalita* no varía, con lo que se fortalece la confianza y validez del método desarrollado.

Se determinó que el método puede ser aplicado en campos ocupacionales, ya que el límite de detección encontrado es inferior a los límites permisibles aceptados por los diferentes organismos de control como: Occupational Safety and Health Administration (OSHA), National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH), *American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH)*. Para el campo ambiental no puede ser aplicado, ya que el límite de detección reportado por la

Environmental Protection Agency (EPA), presenta un límite permisible inferior al obtenido en este trabajo.

El método desarrollado presenta interferencias, que se demuestran dentro de la investigación por medio de la selectividad. Esta limitación se da principalmente con metales como plata y hierro; debido a que se amalgaman con el mercurio, pero los porcentajes de recuperación estuvieron dentro de los límites superiores e inferiores establecidos por la *AOAC*, por lo que sigue siendo un método confiable hasta la concentración probada (40 µg/l).

El método analítico es comparable con el utilizado en la norma *NIOSH 6009*, mostrando que el rango de la técnica desarrollada es más amplio, además de que el límite de detección es más bajo. Incluso si se realiza comparación con otros métodos como, el análisis por activación neutrónica (*INAA*), que utiliza filtros de teflón los límites de detección son más altos para esta técnica que para la técnica desarrollada.

Debido a que el método analítico desarrollado no requiere una digestión química de la muestra, hay menos riesgo de contaminación de la misma o pérdida del mercurio. Además ambientalmente es más amigable, porque no necesita de digestión con reactivos químicos al momento de realizar el análisis.

Dado que en Colombia no existen métodos validados, para el tipo de muestreo que se realiza bajo la norma *NIOSH 6009*, que utiliza como medio de captación tubos *hopcalita* para el análisis químico de mercurio elemental atmosférico y si se requiere realizar este análisis se debe de enviar a laboratorios internacionales certificados incurriendo en costos y tiempos de transportes muy elevados; aumentando la posibilidad de contaminación de las muestras; se logró desarrollar un procedimiento con un alto nivel de confianza, para que sea aprovechada a nivel país y no seamos ajenos a la problemática tan grande que representa este contaminante químico.

6.2. Recomendaciones

Para estudios de contaminación por mercurio elemental atmosférico en ambientes ocupacionales en Colombia, que en este momento es una de las grandes problemáticas ambientales que se está enfrentando, se recomienda el uso de este método, ya que actualmente los muestreos basados en la norma *NIOSH 6009*, no pueden ser analizados

en el país, porque no se cuenta con métodos validados para este tipo de matriz; conllevando altos costos de análisis y que las muestras no sean preservadas adecuadamente.

A nivel de equipo se recomienda optimizar los parámetros instrumentales, con el fin de buscar que los límites de detección sean menores y así lograr que el método sea utilizado en el campo ambiental.

Se recomienda que el método sea utilizado en el país para estudios epidemiológicos, principalmente en sitios donde se realiza explotación de oro.

A. Anexo I: Cálculo análisis de varianza ANOVA

	Concentración ($\mu\text{g/l}$)	Absorbancia	(Concentración) (absorbancia)
PROMEDIO NIVEL 1	0,000	0,001	0,000
PROMEDIO NIVEL 2	5,000	0,027	0,137
PROMEDIO NIVEL 3	10,000	0,053	0,533
PROMEDIO NIVEL 4	15,000	0,083	1,241
PROMEDIO NIVEL 5	20,000	0,106	2,111
PROMEDIO NIVEL 6	40,000	0,201	8,043
PROMEDIO NIVEL 7	300,000	0,877	263,135
ΣS	390,000	1,348	275,200
ΣS^2	152100,000	1,817	75734,811
N	42,000		
SCT			73931,601
gl total	41,000		
SCB			9748,627
gl B	5		
SCW			64182,974
Grados de libertad dentro del grupo	36,000		
Origen de la varianza	grados de libertad (gl)	sumas cuadráticas	
Entre grupos (B)	5	9748,627	
Dentro del grupo (W)	36,000	64182,974	
Total (T)	41,000	73931,601	

$$F_{\text{calculado}} = 1,094$$

B. Anexo II: Valores críticos t-student

DF	P 0,4	P 0,3	P 0,2	Una cola P 0,1	P 0,05	P 0,025	P 0,01	P 0,005
	P 0,8	P 0,6	P 0,4	Dos colas P 0,2	P 0,1	P 0,05	P 0,02	P 0,01
1	0,325	0,727	1,376	3,078	6,316	12,706	31,821	63,657
2	0,289	0,617	1,061	1,886	2,920	4,303	6,965	9,925
3	0,277	0,584	0,978	1,638	2,353	3,182	4,541	5,841
4	0,271	0,569	0,941	1,533	2,132	2,776	3,747	4,604
5	0,267	0,559	0,920	1,476	2,015	2,571	3,365	4,032
6	0,265	0,553	0,906	1,440	1,943	2,447	3,143	3,707
7	0,263	0,549	0,896	1,415	1,895	2,365	2,998	3,499
8	0,262	0,546	0,889	1,397	1,860	2,306	2,896	3,355
9	0,261	0,543	0,883	1,383	1,833	2,262	2,821	3,250
10	0,260	0,542	0,879	1,372	1,812	2,228	2,764	3,169
11	0,260	0,540	0,876	1,363	1,796	2,201	2,718	3,106
12	0,259	0,539	0,873	1,356	1,782	2,179	2,681	3,055
13	0,259	0,538	0,870	1,350	1,771	2,160	2,650	3,012
14	0,258	0,537	0,868	1,345	1,761	2,145	2,624	2,977
15	0,258	0,536	0,866	1,341	1,753	2,131	2,602	2,947
16	0,258	0,535	0,865	1,337	1,746	2,120	2,583	2,921
17	0,257	0,534	0,863	1,333	1,740	2,110	2,567	2,898
18	0,257	0,534	0,862	1,330	1,734	2,101	2,552	2,878
19	0,257	0,533	0,861	1,328	1,729	2,093	2,539	2,861
20	0,257	0,533	0,860	1,325	1,725	2,086	2,528	2,845
21	0,257	0,532	0,859	1,323	1,721	2,080	2,518	2,831
22	0,256	0,532	0,858	1,321	1,717	2,074	2,508	2,819
23	0,256	0,532	0,858	1,319	1,714	2,069	2,500	2,807
24	0,256	0,531	0,857	1,318	1,711	2,064	2,492	2,797
25	0,256	0,531	0,856	1,316	1,708	2,060	2,485	2,787
26	0,256	0,531	0,856	1,315	1,706	2,056	2,479	2,779
27	0,256	0,531	0,855	1,314	1,703	2,052	2,473	2,771
28	0,256	0,530	0,855	1,313	1,701	2,048	2,467	2,763
29	0,256	0,530	0,854	1,311	1,699	2,045	2,462	2,756
30	0,256	0,530	0,854	1,310	1,697	2,042	2,457	2,750
40	0,255	0,529	0,851	1,303	1,684	2,021	2,423	2,704
60	0,254	0,527	0,848	1,296	1,671	2,000	2,390	2,660
120	0,254	0,526	0,845	1,289	1,658	1,980	2,358	2,617
∞	0,253	0,524	0,842	1,282	1,645	1,960	2,326	2,576

C. Anexo III: Cálculos de incertidumbre

El archivo denominado “ANEXO III.pdf” muestra los cálculos de la incertidumbre del método.



ANEXO III.pdf

D. Anexo IV: Tabla de presión de vapor a diferentes temperaturas (calculada en ASPEN)

TEMP	PRES	VAPOR RHO AIR	VAPOR RHO AIR
C	bar	gm/cc	kg/cum
13	1,01325	0,00123372	1,233717
13,2	1,01325	0,00123285	1,232853
13,4	1,01325	0,00123199	1,23199
13,6	1,01325	0,00123113	1,231128
13,8	1,01325	0,00123027	1,230267
14	1,01325	0,00122941	1,229408
14,2	1,01325	0,00122855	1,228549
14,4	1,01325	0,00122769	1,227692
14,6	1,01325	0,00122684	1,226836
14,8	1,01325	0,00122598	1,225982
15	1,01325	0,00122513	1,225128
15,2	1,01325	0,00122428	1,224276
15,4	1,01325	0,00122343	1,223425
15,6	1,01325	0,00122258	1,222575
15,8	1,01325	0,00122173	1,221726
16	1,01325	0,00122088	1,220878
16,2	1,01325	0,00122003	1,220032
16,4	1,01325	0,00121919	1,219187
16,6	1,01325	0,00121834	1,218343
16,8	1,01325	0,0012175	1,2175
17	1,01325	0,00121666	1,216658
17,2	1,01325	0,00121582	1,215818
17,4	1,01325	0,00121498	1,214978
17,6	1,01325	0,00121414	1,21414
17,8	1,01325	0,0012133	1,213303
18	1,01325	0,00121247	1,212467
18,2	1,01325	0,00121163	1,211632
18,4	1,01325	0,0012108	1,210799
18,6	1,01325	0,00120997	1,209966
18,8	1,01325	0,00120914	1,209135
19	1,01325	0,00120831	1,208305
19,2	1,01325	0,00120748	1,207476
19,4	1,01325	0,00120665	1,206648

TEMP	PRES	VAPOR RHO AIR	VAPOR RHO AIR
19,6	1,01325	0,00120582	1,205821
19,8	1,01325	0,001205	1,204995
20	1,01325	0,00120417	1,204171
20,2	1,01325	0,00120335	1,203348
20,4	1,01325	0,00120253	1,202525
20,6	1,01325	0,0012017	1,201704
20,8	1,01325	0,00120088	1,200884
21	1,01325	0,00120007	1,200065
21,2	1,01325	0,00119925	1,199248
21,4	1,01325	0,00119843	1,198431
21,6	1,01325	0,00119762	1,197616
21,8	1,01325	0,0011968	1,196801
22	1,01325	0,00119599	1,195988
22,2	1,01325	0,00119518	1,195176
22,4	1,01325	0,00119437	1,194365
22,6	1,01325	0,00119356	1,193555
22,8	1,01325	0,00119275	1,192746
23	1,01325	0,00119194	1,191938
23,2	1,01325	0,00119113	1,191132
23,4	1,01325	0,00119033	1,190326
23,6	1,01325	0,00118952	1,189522
23,8	1,01325	0,00118872	1,188718
24	1,01325	0,00118792	1,187916
24,2	1,01325	0,00118712	1,187115
24,4	1,01325	0,00118632	1,186315
24,6	1,01325	0,00118552	1,185515
24,8	1,01325	0,00118472	1,184718
25	1,01325	0,00118392	1,183921
25,2	1,01325	0,00118313	1,183125
25,4	1,01325	0,00118233	1,18233
25,6	1,01325	0,00118154	1,181536
25,8	1,01325	0,00118074	1,180744
26	1,01325	0,00117995	1,179952
26,2	1,01325	0,00117916	1,179162
26,4	1,01325	0,00117837	1,178372
26,6	1,01325	0,00117758	1,177584
26,8	1,01325	0,0011768	1,176797
27	1,01325	0,00117601	1,17601
27,2	1,01325	0,00117523	1,175225
27,4	1,01325	0,00117444	1,174441

TEMP	PRES	VAPOR RHO AIR	VAPOR RHO AIR
27,6	1,01325	0,00117366	1,173658
27,8	1,01325	0,00117288	1,172876
28	1,01325	0,0011721	1,172095
28,2	1,01325	0,00117132	1,171315
28,4	1,01325	0,00117054	1,170536
28,6	1,01325	0,00116976	1,169758
28,8	1,01325	0,00116898	1,168981
29	1,01325	0,00116821	1,168206
29,2	1,01325	0,00116743	1,167431
29,4	1,01325	0,00116666	1,166657
29,6	1,01325	0,00116588	1,165884
29,8	1,01325	0,00116511	1,165113
30	1,01325	0,00116434	1,164342
30,2	1,01325	0,00116357	1,163572
30,4	1,01325	0,0011628	1,162804
30,6	1,01325	0,00116204	1,162036
30,8	1,01325	0,00116127	1,16127
31	1,01325	0,0011605	1,160504
31,2	1,01325	0,00115974	1,159739
31,4	1,01325	0,00115898	1,158976
31,6	1,01325	0,00115821	1,158213
31,8	1,01325	0,00115745	1,157452
32	1,01325	0,00115669	1,156691
32,2	1,01325	0,00115593	1,155932
32,4	1,01325	0,00115517	1,155173
32,6	1,01325	0,00115442	1,154416
32,8	1,01325	0,00115366	1,153659
33	1,01325	0,0011529	1,152903
33,2	1,01325	0,00115215	1,152149
33,4	1,01325	0,0011514	1,151395
33,6	1,01325	0,00115064	1,150643
33,8	1,01325	0,00114989	1,149891
34	1,01325	0,00114914	1,14914
34,2	1,01325	0,00114839	1,148391
34,4	1,01325	0,00114764	1,147642
34,6	1,01325	0,00114689	1,146894
34,8	1,01325	0,00114615	1,146148
35	1,01325	0,0011454	1,145402

E. Anexo V: Análisis SEM muestras *hopcalita*

En el archivo “ANEXO V.pdf” se encuentra en detalle todos los análisis SEM de las diferentes muestras de hopcalita.



ANEXO V.pdf