



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

**ESTUDIO DE LOS SUELOS CONTAMINADOS CON MERCURIO DEL ESTADO DE
QUERÉTARO, SUS ESPECIES Y ENSAYOS DE BIODISPONIBILIDAD.**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

PRESENTA

ROCÍO NAVARRO GARCÍA



MÉXICO, D.F.

2009



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesora: Irma Cruz Gavilán García
VOCAL: Profesor: José de Jesús García Valdés
SECRETARIO: Profesora: María Elena Bravo Gómez
1er. SUPLENTE: Profesor: Lilia del Carmen López Serrano
2° SUPLENTE: Profesor: Elvira Santos Santos

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

UNIDAD DE GESTIÓN AMBIENTAL, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.

ASESOR DEL TEMA:

IRMA CRUZ GAVILÁN GARCÍA

(nombre y firma)



SUPERVISOR TÉCNICO:

ELVIRA SANTOS SANTOS

(nombre y firma)



SUSTENTANTE:

ROCÍO NAVARRO GARCÍA

(nombre y firma)



* Este trabajo fue realizado con el apoyo de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico mediante el proyecto PAPIIT IN205807.

DEDICATORIA

A mi madre, María Alma, el ángel que me trajo a este mundo y ha dedicado su vida a sus hijos, por quienes ha dado todo y los ha guiado al éxito. Es por ella que soy quien soy, y por eso le dedico mis logros, tanto los pasados como los venideros.

A mi hermana, Alma Ximena, mente brillante y uno de mis grandes orgullos; a quien admiro y admiraré por siempre. Porque las semejanzas nos acercan, pero las diferencias nos unen.

A mi gemelo, Rodrigo, revolucionario empedernido, conocimiento andante; de quien he aprendido tantas cosas y me ha ayudado a comprender y transformar las hostilidades de la vida en pruebas fortalecedoras. Somos uno.

Por ustedes daría la vida: los amo con todo mi ser.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por ofrecerme a mí y a los jóvenes del pueblo mexicano una educación de alto nivel que nos permite obtener las herramientas necesarias para contribuir con el progreso de la nación.

A la Facultad de Química de la UNAM, honorable institución, que me abrió sus puertas y llegó a ser un hogar para mí; a todas y cada una de las personas que la conforman, que han contribuido significativamente en mi desarrollo tanto profesional como personal.

Al Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA), por el apoyo económico brindado para la realización de este trabajo.

Al Instituto Nacional de Ecología y a la delegación de la SEMARNAT en el estado de Querétaro, por su apoyo técnico durante el trabajo de campo y las actividades de muestreo.

A la Maestra Irma Gavilán por haberme permitido ser parte del equipo de la Unidad de Gestión Ambiental y otorgarme la confianza para ayudar a desarrollar un proyecto de gran trascendencia para el país en el ámbito ambiental. Le agradezco también su apoyo y consejos durante mi estancia en el laboratorio.

A la Maestra Susana Cano, por quien llegué a la UGA, por sus recomendaciones, consejos y porque ha sido una buena amiga a lo largo de este tiempo.

A los integrantes del jurado por sus valiosas aportaciones en la revisión de este trabajo.

A la I.Q. Sara Suárez por su apoyo en la realización de las determinaciones del mercurio por medio de la técnica de Absorción Atómica.

A la profesora Honoria Fuentes y al departamento de Farmacia por las facilidades otorgadas en el empleo del equipo necesario para realizar las pruebas experimentales del ensayo de biodisponibilidad.

A mis compañeros de la UGA, quienes amenizaron mi labor en el laboratorio y se mostraron siempre dispuestos a ayudarme cuando fuere necesario.

A Gaby, Lalo, Oscar y Roberto, por acompañarme en este extraordinario viaje, y porque siempre permanecieron a mi lado, a pesar de mis locuras, desde el momento en que tuve la suerte de toparme con ellos.

A Brettin, Chutney, Diego, Tiffany, Toby y Zane, porque su compañía me ha brindado un sinfín de alegrías; gracias por ofrecerme una amistad generosa y sincera que no sabe de fronteras y que, estoy segura, irá más allá de los límites aparentes que hoy nos abruma.

A mi familia, gran tesoro, a quienes ofrezco todo mi esfuerzo y para quienes siempre estaré presente; les agradezco el amor que me dan y su continuo interés por verme crecer.

A mi tía Claudia y a mi tío Víctor por todo el cariño, apoyo y la atención que me han ofrecido; por hacerme saber que cuento con ustedes.

A mi padre, J. Martín Navarro, por haber elegido a la mejor compañera para traerme a este mundo, por haberme dotado del intelecto que me permitiera llegar hasta aquí y por haberme regalado a cuatro asombrosos hermanos que comparten conmigo la capacidad de salir adelante en cualquier circunstancia.

A mi tía Toña, a quien siempre he admirado y querido con todo mi corazón, quien siempre ha creído en mí y me ha apoyado incondicionalmente, y de quien decidí seguir sus pasos en el excepcional mundo de la química.

A mi tío Beto, quien siempre ha estado ahí y ha sido un padre para mí; porque es una persona maravillosa y un gran ejemplo a seguir. Gracias por estar siempre al pendiente de mi madre, mis hermanos y de mí, con un grandioso e inigualable cariño.

Pero sobre todo, a Dios, porque me ha dado la vida y ha estado siempre conmigo para proveerme de lo que necesito para salir adelante, y porque sé que ésto continuará en el futuro que Él decida ofrecerme.

ÍNDICE

CAPÍTULO		PÁGINA
1	INTRODUCCIÓN	1
2	MARCO TEÓRICO	3
	2.1 ANTECEDENTES HISTÓRICOS	3
	2.2 DESCRIPCIÓN DE LA ZONA DE ESTUDIO	4
	2.3 PROPIEDADES Y COMPORTAMIENTO AMBIENTAL DE LOS METALES	13
	2.4 MERCURIO: PROPIEDADES Y TOXICIDAD	17
3	PRINCIPIOS BÁSICOS DE LA TÉCNICA INSTRUMENTAL Y DE LOS MÉTODOS EXPERIMENTALES	25
	3.1 TÉCNICA INSTRUMENTAL: ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA	25
	3.2 DETERMINACIÓN DE MERCURIO TOTAL	34
	3.3 ESPECIACIÓN QUÍMICA SECUENCIAL	34
	3.4 ENSAYO DE BIODISPONIBILIDAD <i>IN VITRO</i>	36
4	DESARROLLO EXPERIMENTAL	39
	4.1 MUESTREO DE LOS SUELOS CONTAMINADOS	39
	4.2 DETERMINACIÓN DE MERCURIO TOTAL	46
	4.3 ESPECIACIÓN QUÍMICA SECUENCIAL DEL MERCURIO	47
	4.4 ENSAYO DE BIODISPONIBILIDAD <i>IN VITRO</i>	51
5	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	55
	5.1 MUESTREO DE LOS SUELOS CONTAMINADOS	55

CAPÍTULO		PÁGINA
	5.2 DETERMINACIÓN DE MERCURIO TOTAL	57
	5.3 ESPECIACIÓN QUÍMICA SECUENCIAL	60
	5.4 ENSAYO DE BIODISPONIBILIDAD <i>IN VITRO</i>	70
6	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	75
7	BIBLIOGRAFÍA	78

CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN

El estudio de la presencia de mercurio en diferentes matrices ambientales tiene como antecedentes distintos proyectos de naturaleza interdisciplinaria que han contemplado la colaboración entre diversos actores gubernamentales, tanto locales como nacionales, y del sector académico. En los municipios de Pinal de Amoles y San Joaquín, Querétaro, los estudios previos se centraron inicialmente en la contaminación de la zona por mercurio en el periodo prehispánico; sin embargo, dichos estudios se basan en la determinación de mercurio total (entre otros cationes potencialmente tóxicos como As, Cd, Pb, Cr, etc.) sin considerar la evaluación de las especies presentes.

A partir de 1930, y especialmente en las décadas de los cincuentas y sesentas del siglo pasado, es cuando se presenta una bonanza en la producción primaria de mercurio, convirtiéndose el estado en el primer productor de mercurio a nivel nacional. Esta explotación se llevó a cabo en épocas en las que no existían consideraciones de protección al ambiente en cuanto al proceso de producción y aprovechamiento del metal. Así, después de muchos años de inactividad en las minas, puede encontrarse en ellas cantidades elevadas de mercurio, presentándose éste en distintas especies con propiedades físicas y químicas diferentes, y por lo tanto, con efectos toxicológicos diversos; estas propiedades pueden repercutir en la acumulación del mercurio en las diferentes matrices ambientales.

El grado en que un contaminante se acumula en la biota es una función de las características del mismo, de las de los organismos, y de las condiciones ambientales bajo las cuales todos éstos interactúan. Las formas químicas en las cuales los contaminantes están presentes en el ambiente determinan el grado en el cual están disponibles para ser biotransformados y/o eliminados. La evaluación de la biodisponibilidad de un contaminante es un factor clave para establecer los riesgos a la salud y al ambiente que representan los sitios afectados por el mismo.

El ingreso de mercurio a los organismos puede darse por diferentes rutas de exposición, siendo una de las más importantes la ingesta de cultivos agrícolas contaminados. La exposición a los contaminantes del suelo puede ser sobreestimada si no se considera la biodisponibilidad oral, particularmente en el caso de comunidades rurales cuya principal actividad es la agricultura para el autoconsumo.

Este trabajo tiene como objetivo principal determinar si la presencia de mercurio en suelos contaminados de los municipios de Pinal de Amoles y San Joaquín del estado de Querétaro representa un riesgo a la salud y al ambiente por su grado de biodisponibilidad, basado en las especies químicas de mercurio presentes en los suelos mineros. Si el mercurio se encuentra en el suelo como una especie biodisponible, entonces éste constituye una amenaza para la integridad de la población y del medio.

Se pretende realizar la evaluación de la biodisponibilidad *in vitro* del mercurio mediante una prueba de extracción fisiológica (PBET) en las muestras de los suelos contaminados para así proporcionar elementos que sirvan como base para identificar las especies de mayor riesgo a la salud de la población.

Los resultados que surjan de este estudio apoyarán a las autoridades responsables en la toma de decisiones sobre las acciones de remediación adecuadas, en caso de ser necesarias, y dar cumplimiento a los acuerdos internacionales suscritos por México en materia de contaminantes tóxicos y persistentes de atención prioritaria considerados dentro del marco de la Comisión para la Cooperación Ambiental (CCA) y del Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA).

El alcance de este estudio es de tipo exploratorio y se limita a las muestras tomadas debido a que, hasta la fecha, no se cuenta con estudios previos de especiación que pudieran conducir a un muestreo más selectivo; asimismo, los recursos para el desarrollo de este trabajo fueron limitados por lo que se debieron optimizar al máximo.

CAPÍTULO 2

MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES HISTÓRICOS

La tradición minera en el país se remonta a la época prehispánica con la explotación de yacimientos ubicados principalmente en las zonas de Taxco, Pachuca, Guanajuato y Querétaro¹.

El distrito minero de San Joaquín, Querétaro, ha sido una zona importante de producción de mercurio durante distintas épocas; se tienen indicios de minería incipiente durante el periodo prehispánico evidenciada por socavones localizados al fondo de la barranca cercana a la zona arqueológica de Ranas, los cuales se atribuyen a la cultura chichimeca serrana que fundó este asentamiento. El mineral de mercurio que se explotaba como cinabrio (HgS), fue utilizado como pigmento y como ofrenda en algunos rituales².

En la Sierra Gorda la presencia del cinabrio y azogue (Hg metálico) propició que sus habitantes desarrollaran técnicas para su extracción. En la zona de San Joaquín, Querétaro, existen yacimientos de mercurio de origen natural asociados a otros cationes potencialmente tóxicos como As, Cd, Pb, Cr, Sb, Cu, Ni y Zn. Si bien se han registrado actividades relacionadas con la explotación y manejo del cinabrio desde el siglo IV de nuestra era, es a partir de 1930 y especialmente en las décadas 50 y 60 del siglo pasado, cuando se presenta una bonanza en la producción primaria de mercurio, constituyéndose en el primer productor de mercurio a nivel nacional³.

Esta explotación se realizó en épocas en las que no existían consideraciones de protección al ambiente en el proceso de producción y beneficio del metal. Así, después de muchos años de inactividad en las minas, puede encontrarse cantidades elevadas de mercurio, en una gama de especies que tienen propiedades físicas y químicas diferentes; por ello, es muy probable que haya ocurrido la acumulación de mercurio en las diferentes matrices ambientales.

En este sentido, es de suma importancia la determinación del mercurio en dichas matrices, sea en suelos y sedimentos, en aire e incluso en seres vivos, formulando una visión integral de tiempo y espacio, considerando la cuenca hidrológica como unidad de estudio. De esta visión integral se derivan diferentes planteamientos tales como identificación de fuentes de contaminación e impactos en el ambiente y salud pública, así como la evaluación de los riesgos que implica la presencia de mercurio en las diferentes matrices ambientales, para proponer finalmente algunas medidas de protección y propuestas de rehabilitación del ambiente.

2.2 DESCRIPCIÓN DE LA ZONA DE ESTUDIO

2.2.1 Descripción Geográfica

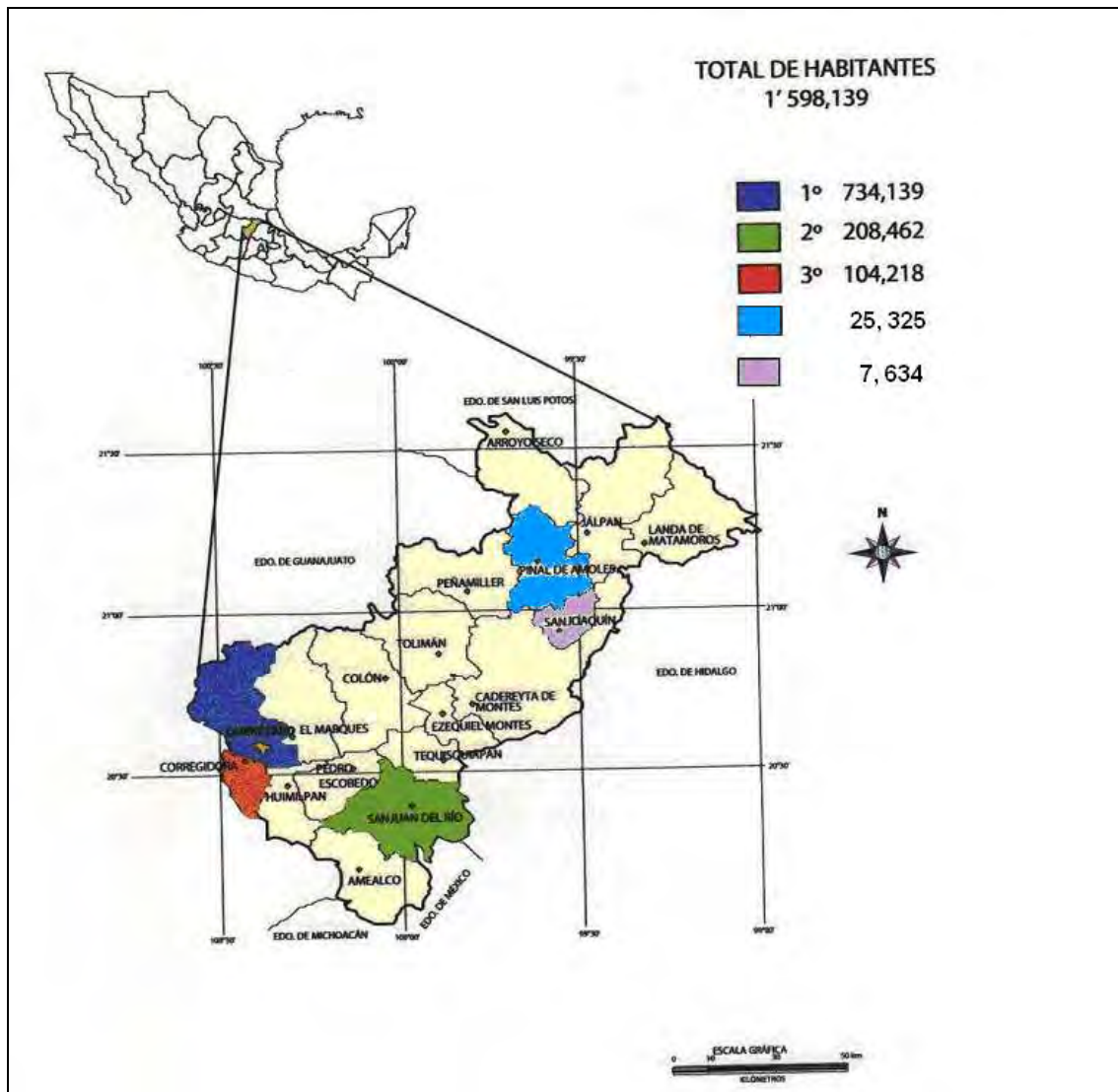
a. Localización y extensión territorial

El municipio de San Joaquín se localiza al norte del estado de Querétaro, entre los 99° 22' y los 99° 39' de longitud Oeste y entre los 21° 07' y los 20° 53' de latitud Norte, situado a 135 kilómetros de la capital del estado. Colinda al norte con los municipios de Pinal de Amoles y Jalpan de Serra; al este con el estado de Hidalgo; al sur con el municipio de Cadereyta de Montes y Pinal de Amoles. El municipio tiene una extensión territorial de 499 km² que representan el 2.4% de la superficie estatal.

El municipio de Pinal de Amoles se localiza al norte del estado de Querétaro entre los 99°26' y 99°43' de longitud Oeste del meridiano de Greenwich y entre los paralelos 20°58' y 21°21' de latitud Norte, situado a 153 kilómetros de la capital del estado. Colinda al norte con el municipio de Arroyo Seco, al sur con los municipios de San Joaquín y Cadereyta de Montes, al este con los municipios de Jalpan de Serra y San Joaquín, al oeste con el municipio de Peñamiller y el estado de Guanajuato. El municipio tiene una extensión territorial de 705 km², los cuales representan el 6.04% de la superficie estatal⁴.

En la figura 2.1 se observa la división municipal del estado de Querétaro⁴, así como la densidad poblacional⁵ de la zona de estudio.

Figura 2.1 División municipal del estado de Querétaro



Fuente: Panorama Minero del Estado de Querétaro, SE 2008; www.sgm.gob.mx [4]

b. Orografía

El municipio de San Joaquín se encuentra enclavado en la Sierra Gorda de Querétaro, entre zonas montañosas y boscosas, por lo que su topografía es muy accidentada, con cerros que llegan a los 2 680 metros de altura y barrancas profundas de hasta 700 metros, en cuyo fondo corren algunos arroyos.

En lo que se refiere al municipio de Pinal de Amoles, éste se encuentra en una zona accidentada con pendientes pronunciadas, planicies pequeñas y mesetas. La altitud sobre el nivel del mar es muy variable, oscilando entre los 839 msnm (metros sobre el nivel del mar) hasta los 3 350 msnm del cerro de La Calentura, que es el punto más alto de todo el territorio estatal⁶.

c. Hidrografía

El río más importante de San Joaquín es el Extoraz, que pasa por algunas de las localidades del municipio. Éste nace en el estado de Guanajuato, su corriente es de origen pluvial con varios arroyos, siendo el más importante el de San Lorenzo, que tiene su origen en la mina del Otatal y su curso es de sur a norte. Además, existen manantiales dispersos debido a los escurrimientos superficiales ocasionados por las precipitaciones pluviales y otros de tipo permanente, que en épocas de sequía bajan su nivel.

En cuanto al municipio de Pinal de Amoles, las corrientes son en su mayoría torrenciales; existen también pequeños manantiales dispersos en toda la zona. Por este municipio cruzan dos ríos de importancia: el Extoraz que cruza en la parte sur, en dirección oriental y El Rodezno o Río Escanela, que atraviesa las localidades de Escanela, Escanelilla y Ahuacatlán, y desemboca en la presa de Jalpan de Serra⁶.

d. Clima

En el municipio de San Joaquín prevalece el clima de tipo templado-húmedo con verano fresco y una temperatura media anual de 14°C, siendo los meses de abril y mayo los más calurosos con un promedio de 30°C. La precipitación pluvial anual promedio es de 1150mm. La estación invernal se presenta en los meses de noviembre, diciembre y enero al cambiar la dirección de los vientos del norte que propician el descenso de la temperatura, en algunos días, hasta por debajo de los -3°C.

En el municipio de Pinal de Amoles se presentan tres climas: templado húmedo, semicálido seco y semicálido húmedo. El clima templado húmedo se presenta en altitudes mayores a 2 000 msnm, con lluvias en verano y temperatura media anual de entre los 12°C y 18°C, con poca lluvia invernal; la precipitación media anual es de 850 mm. El clima semicálido seco tiene temperaturas anuales de entre los 18°C y 22°C, con lluvias en verano y escasa lluvia invernal; la precipitación media anual es de 509 mm. En cuanto al clima semicálido húmedo, se caracteriza por la presencia de lluvias en verano y un bajo porcentaje de lluvias invernales, con verano cálido y extremo; la precipitación media anual es de 992 mm.

2.2.2 Actividades económicas

La actividad principal en el municipio de San Joaquín es agrícola, en la que predomina la siembra de cultivos de temporal y en menor medida, cultivos de riego. La producción del municipio está basada en dos tipos de cultivo: maíz y frijol siendo la región más importante la del maíz; la producción es básicamente para autoconsumo.

En el municipio de Pinal de Amoles las principales actividades económicas son la agricultura, fruticultura, y ganadería, entre otras. El municipio cuenta con un total de 60 970 ha de superficie, de las cuales 4 893 ha están destinadas para la siembra. Las principales superficies de riego se destinan al cultivo para el autoconsumo de maíz, frijol, garbanzo, chile, papa y jitomate; una parte de la producción se utiliza también para el comercio. En la figura 2.2 se observa el mapa de agricultura y vegetación del estado de Querétaro.

2.2.3 Regiones mineras

En el estado de Querétaro existe una gran variedad de minerales metálicos, como Au, Ag, Pb, Cu, Hg, Sb, así como minerales no metálicos, tales como ópalos, mármoles, caolín, materiales de ornato. Como se observa en la figura 2.3, se pueden enmarcar siete regiones mineras, agrupándose de

acuerdo a su importancia, tipo de mineralización y a la forma en que se observan los distritos mineros más importantes.

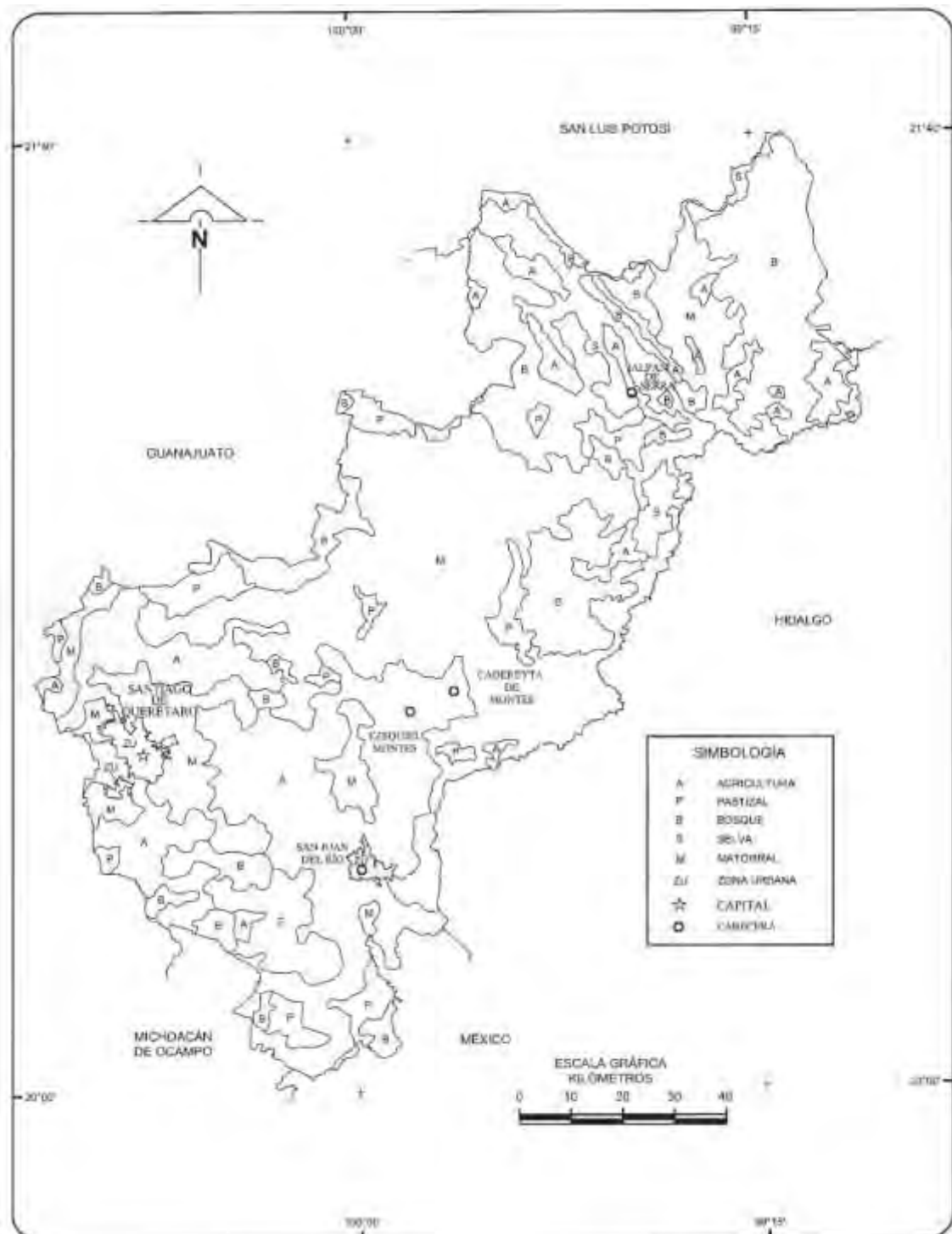
La figura 2.4 permite observar la localización de los distritos mineros del estado. En la tabla 2.1 se enlistan las regiones y distritos mineros del estado de Querétaro.

2.2.4 Características y uso de suelo

En el municipio de San Joaquín se presentan cuatro tipos de suelo:

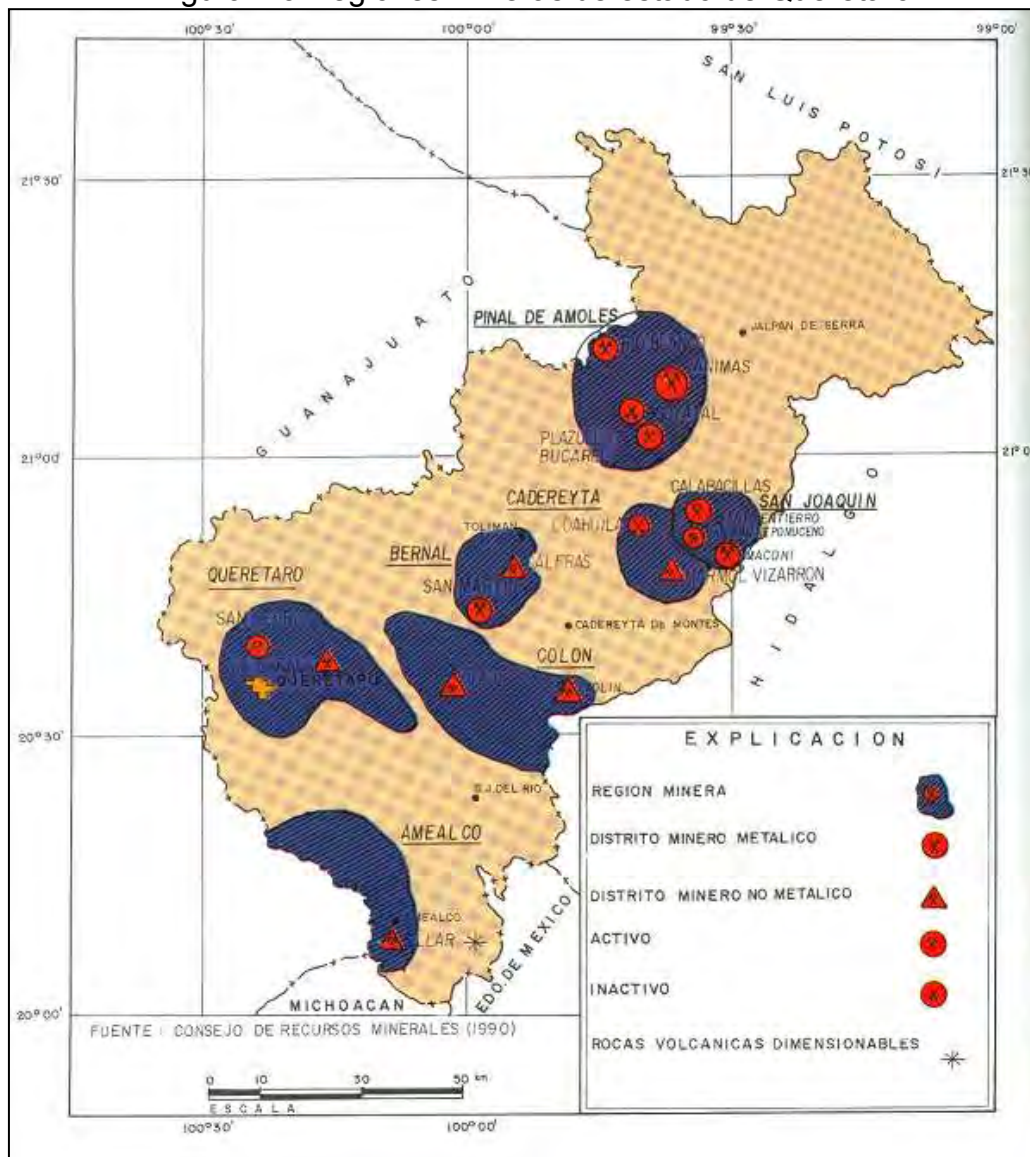
- a) Luvisol crómico, asociado con cambisol crómico y acrisol férrico, de clase textural fina y fase física lítica;
- b) Redzina, asociado con luvisol crómico y acrisol férrico, de clase textural fina y fase física lítica;
- c) Regosol calcárico, asociado con litosol, de clase textural media y fase física lítica;
- d) Cambisol crómico, asociado con luvisol crómico de clase textural fina y fase física lítica.

Figura 2.2 Agricultura y vegetación del estado de Querétaro



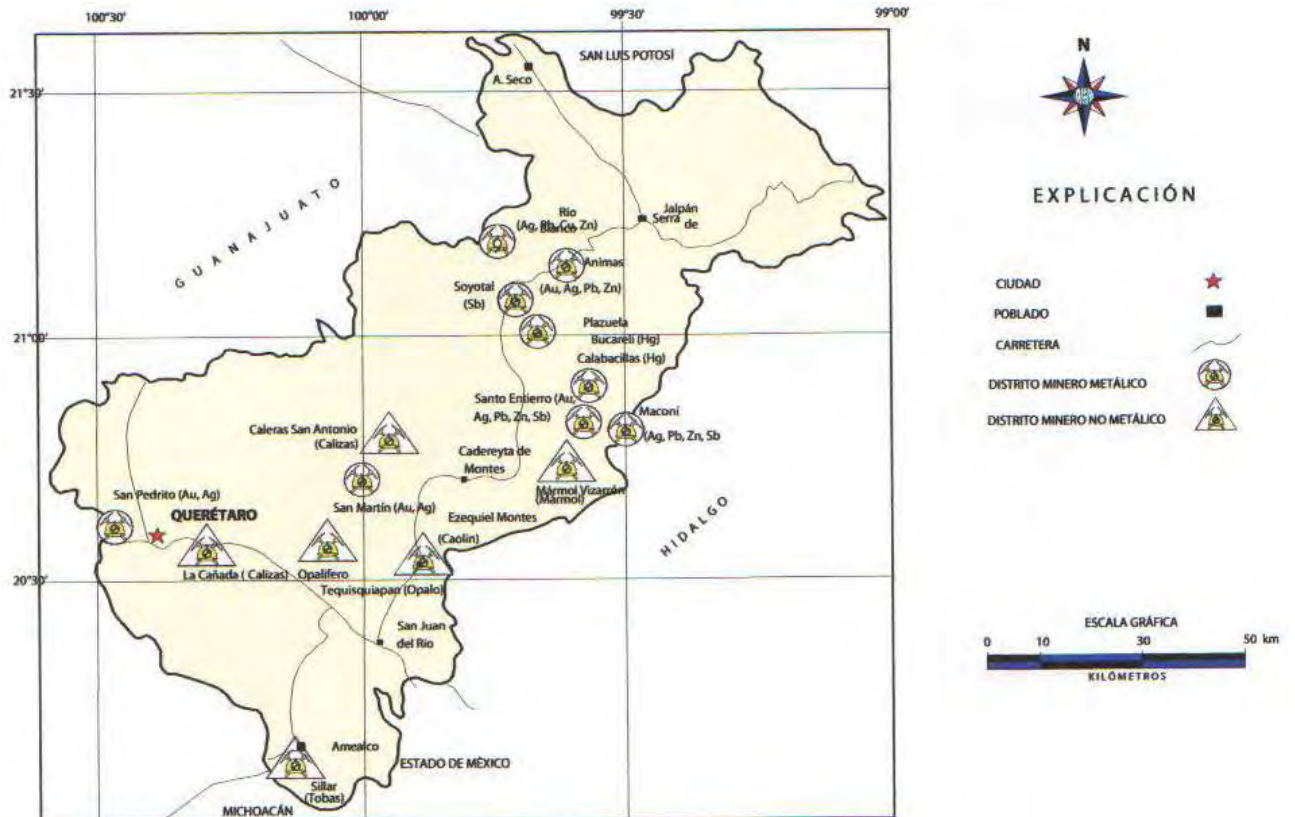
FUENTE: INEGI. Conjunto de Datos Geográficos de la Carta de Uso del Suelo y Vegetación, 1:250 000. Serie II, 2005. [7]

Figura 2.3 Regiones Mineras de estado de Querétaro



Fuente: Panorama Minero del Estado de Querétaro, SE 2008; www.sgm.gob.mx [4]

Figura 2.4 Distritos mineros del estado de Querétaro



Fuente: Panorama Minero del Estado de Querétaro, SE 2008; www.sgm.gob.mx [4]

Tabla 2.1 Regiones mineras y sus respectivos distritos del estado de Querétaro

1. Región minera Pinal de Amoles

Mineralización	Tipo de yacimiento	Minas importantes	Distritos mineros importantes
Au, Ag, Pb, Zn, Cu, Hg, Sb	Mantos y chimeneas, zonas de roca metamórfica, vetas.	Santo Domingo, San Antonio, San José, Santa Ana, Guadalupe, San Joaquín	Animas, Río Blanco, El Soyatal, Plazuela Bucareli

2. Región minera San Joaquín

Mineralización	Tipo de yacimiento	Minas importantes	Distritos mineros importantes
Ag, Pb, Zn, Cu, Au, Hg	Chimeneas, roca metamórfica, mantos, diseminados.	La Negra, El Alacrán, Santo Entierro, San Juan Nepomuceno, Las Calabacillas, Maravillas	Maconí, Santo Entierro, San Juan Nepomuceno, Calabacillas

3. Región minera Cadereyta

Mineralización	Tipo de yacimiento	Minas importantes	Distritos mineros importantes
Mármol	Estratiforme.	Bancos El Doctor, Bancos de Sombrerete, Bancos de Chavarría	Marmolero Vizarrón

4. Región minera Bernal

Mineralización	Tipo de yacimiento	Minas importantes	Distritos mineros importantes
Au, Ag, Calizas	Chimenea, veta, mantos.	San Martín, Cristo Rey, Calera Los Arcos, Calera San Antonio	San Martín, Calera San Antonio

5. Región minera Colón

Mineralización	Tipo de yacimiento	Minas importantes	Distritos mineros importantes
Ópalo, Caolín	Irregular-Masiva.	Iris, La Trinidad, La Carbonera, Banco Sombrerete, Banco Barajas	Opalífero: Tequisquiapan Caolín: Ezequiel Montes

6. Región minera Querétaro

Mineralización	Tipo de yacimiento	Minas importantes	Distritos mineros importantes
Au, Ag, Canteras	Vetas, masivo.	Veta Mina Grande, Veta 36, Veta Tiros Cuates, Cantera La Cañada	San Pedrito, Materiales de Ornato La Cañada

7. Región minera Amealco

Mineralización	Tipo de yacimiento	Minas importantes	Distritos mineros importantes
Rocas Dimensionable	Masivo.	Existen importantes yacimientos de sillar	

Fuente: Panorama Minero del Estado de Querétaro, SE 2008; www.sgm.gob.mx [4]

2.3 PROPIEDADES Y COMPORTAMIENTO AMBIENTAL DE LOS METALES

Las formas en las que las sustancias inorgánicas pueden convertirse en un problema ambiental y, por lo tanto, ser consideradas como contaminantes, son frecuentemente resultado de su movilización o modificación química por actividades antropogénicas.

En el contexto de dosis-respuesta, aquellas sustancias que son tanto nutrientes como tóxicos potenciales, pueden ser puestas en un modelo simple en el que se trate de conceptos como deficiencia, suficiencia y toxicidad. La respuesta dependerá de la forma química del elemento, la cual afecta su disponibilidad biológica o biodisponibilidad⁸.

En cuanto a los efectos tóxicos de los metales en sistemas vivos, se pueden hacer algunas generalizaciones, como el hecho de que la toxicidad de un metal puede ser diferente dependiendo de la ruta de exposición⁹; otra de ellas se refiere a su capacidad para unirse a diferentes grupos funcionales de una enzima, alterando así su función. Generalmente, estas reacciones resultan en la desactivación de la enzima, aunque también se puede observar una estimulación de la actividad catalítica de la misma por la unión de cationes metálicos.

2.3.1 Movilización, unión y formas químicas de los metales en el ambiente

Los metales pueden presentarse en el medio de manera natural. Desde que las civilizaciones antiguas reconocieron el gran potencial de los metales, el objetivo humano ha sido la extracción de los mismos del material geológico; todo esto ha generado la movilización de los elementos presentes en dicha materia. La movilización involucra, normalmente, el cambio de la forma química o física de un elemento, y en ocasiones, su localización. Cuando esto sucede, es lógico esperar que sus efectos biológicos también cambien.

Las concentraciones de metales en las aguas naturales son controladas por reacciones de absorción, las cuales son inherentemente pH-dependientes.

Debido a que el ion hidrógeno tiene también gran influencia en muchos otros procesos geoquímicos y biológicos, el pH se conoce como una variable importante en la toxicología ambiental⁸.

Otro de los factores que se considera también como una variable importante es la materia orgánica, particularmente el carbono orgánico disuelto, el cual afecta la movilidad de los metales de diferentes y complejas maneras. La materia orgánica, ya sea de origen natural o sintético, provee de ligandos, a los cuales, los cationes se pueden unir fácilmente, dando lugar a complejos. La fuerza o estabilidad de la unión metal-ligando depende de la naturaleza química del ligando, del mismo metal y del pH. La fuerza de unión es de gran importancia tanto para la biodisponibilidad del metal, como para los efectos biológicos de dicha unión.

2.3.2 Biodisponibilidad de los metales en el ambiente

El concepto de biodisponibilidad puede ser entendido si se considera el hecho de que una simple medición del metal “total”, es decir, de la concentración del elemento sin tomar en cuenta sus especies químicas o la distribución de las mismas, no es una buena predicción de su efecto biológico, ya sea éste estimulante o inhibitorio. Para afectar a un sistema biológico el metal debe estar en la forma que pueda ser “vista” por éste, es decir, el metal debe interactuar con la superficie o el interior de la célula. No todas las formas de un metal cumplen con esta característica⁸.

La distinción primordial entre las formas de los elementos es si se encuentran disueltos o en fase sólida. Por ejemplo, las plantas sólo pueden asimilar nutrientes o contaminantes que se encuentren en forma disuelta, pero los animales pueden introducir en su organismo partículas sólidas y si éstas tienen contaminantes asociados a ellas, es probable que, subsecuentemente, dichos contaminantes puedan ser asimilados. Así, la distinción elemental entre partículas disueltas o en fase sólida no es tan simple en términos de biodisponibilidad de un contaminante.

La teoría más aceptada en cuanto a biodisponibilidad de metales se refiere, es el modelo de actividad del ion libre (FIAM por sus siglas en inglés). Este modelo establece que la concentración del ion libre, M^{m+} , es la mejor manera de predecir la biodisponibilidad de dicho metal. El ion libre puede interactuar con la superficie de la célula y/o ser transportado al interior de la misma. La célula, con sus sitios cargados negativamente, puede ser vista como un ligando al cual el metal libre se une; si el metal que se encuentra fuera de la célula no está en su forma libre pero se une con relativa debilidad a un ligando, la superficie celular puede competir con la unión externa y puede ocurrir un intercambio de ligando, resultando en la remoción del metal del complejo externo y en la transferencia del metal a la célula⁸.

Durante las dos últimas décadas, se ha puesto mucha atención a cuestiones relacionadas a la especiación y biodisponibilidad de metales; así mismo, un gran número de avances técnicos ha coincidido con el interés científico en la materia. Hasta cierto punto, este proceso ha sido recíproco con el estímulo de la provisión de avances técnicos por el interés en la especiación, mientras que los mismos han facilitado estudios experimentales y de campo para la biodisponibilidad, los cuales no eran factibles hace algún tiempo.

2.3.3 Persistencia de los metales en el ambiente

El destino de las sustancias que son introducidas a un ecosistema puede ser permanecer en su forma original o sufrir un cambio por medio de un proceso químico o biológico a algún otro compuesto. El término persistencia es, aparentemente, muy útil para compuestos orgánicos, los cuales pueden o no sufrir conversión o degradación alguna después de haber sido liberados al ambiente. Si el compuesto permanece sin cambios por largo tiempo y éste tiene propiedades tóxicas, la consecuencia sería aún más seria que si el mismo compuesto pudiera degradarse a compuestos menos dañinos. En la mayoría de las jurisdicciones, al menos hasta ahora, la persistencia, junto con la toxicidad y la tendencia a la bioconcentración, se utiliza en el análisis de riesgo de sustancias potencialmente tóxicas⁸.

Los metales, por su naturaleza, no pueden ser degradados, por lo que son considerados persistentes en el ambiente. En general, el concepto de persistencia en el ambiente puede ser poco útil en el entendimiento científico de la toxicología de los metales, pero el concepto de persistencia de una sustancia en el organismo o tejido es de mayor utilidad. Para este concepto, el término más utilizado es la vida media biológica, el cual se refiere al tiempo que se requiere para la eliminación del cuerpo del 50% de la dosis de una sustancia. Los metales como el mercurio y el plomo tienen tiempos de vida media prolongados en los mamíferos, desde meses para el primero, hasta años, inclusive décadas, para el segundo. El mercurio, en su forma metilada, persiste en el tejido nervioso, el cual es también el blanco de la mayoría de sus efectos tóxicos.

2.3.4 Bioconcentración, bioacumulación y biomagnificación de los metales en el ambiente

Cuando los organismos están expuestos a metales en sus respectivos ambientes, éstos son depositados dentro o sobre el organismo, ya sea activa o pasivamente, dependiendo del elemento y de las condiciones ambientales. En el equilibrio, un organismo generalmente tiene una concentración más alta del metal en sus tejidos que en su ambiente inmediato; el tejido o tejidos específicos en los cuales el elemento se concentra varía también de acuerdo al elemento y a las condiciones del ambiente. El término bioconcentración aplica al fenómeno en el que un organismo contiene concentraciones, de una sustancia dada, más elevadas que la concentración presente en la fuente inmediata de la misma.

Se habla de bioacumulación sobre el tiempo de vida de un organismo cuando, con el tiempo, la bioconcentración continúa, de manera que los organismos más viejos o más grandes tendrán concentraciones de cierta sustancia más altas que las que presentan los organismos más jóvenes o más pequeños. La acumulación de una sustancia a través de niveles tróficos sucesivos, la cual sucede si ésta no es eliminada, excretada o controlada, se llama biomagnificación. La biomagnificación es un fenómeno propio de una

cadena o red alimenticia y no puede ser aplicado a un solo organismo. En cuanto a los metales se refiere, el mercurio es el único de ellos del que se ha demostrado, inequívocamente, que presenta biomagnificación⁸.

2.4 MERCURIO: PROPIEDADES Y TOXICIDAD

La producción de mercurio ha llevado, desde tiempos históricos, a la exposición humana de dicho metal; éste ha sido objeto de minería desde por lo menos hace dos mil años en minas españolas de Almadén, las cuales son todavía las más grandes productoras de mercurio. El uso del cinabrio (HgS) como pigmento para la tinta roja en China se remite a tres mil años atrás. De alguna manera, más recientemente, el mercurio ha contribuido a descubrimientos científicos importantes, incluyendo leyes de la física, con el desarrollo de aparatos de medición de temperatura y presión. Hoy en día el uso del mercurio es un reflejo de sus propiedades, pues, aún pudiendo ser utilizado como bactericida, fungicida u otro tipo de medicación, éstas han sido de gran impacto en términos de producción y contaminación ambiental, por lo que ahora, este tipo de productos están casi totalmente ausentes en países desarrollados.

La atención al daño potencial para la salud humana y la de otros organismos por la exposición ambiental al mercurio, comparada con la exposición ocupacional, proviene de una serie de eventos aparentemente independientes. Toxicólogos médicos y ambientales, así como gobiernos y el mismo público, fueron alertados por la detonación de envenenamientos por mercurio en Japón, originado por una planta química, y en Iraq, por el consumo humano de semillas de grano tratadas con mercurio; estos envenenamientos produjeron efectos en la salud humana tanto severos como fatales. Además, en la década de los setentas, en Canadá y Suecia, se dio a conocer públicamente la contaminación local masiva del medio por mercurio proveniente de plantas de cloroálcalis. Antes de este tiempo, toda la atención hacia los efectos tóxicos del mercurio era meramente por intoxicación a través de exposición ocupacional⁸.

2.4.1 Propiedades, presencia y comportamiento ambiental del mercurio

El mercurio, cuyo símbolo químico es Hg, número atómico 80 y peso atómico de 200.59, en su forma metálica, se volatiliza inmediatamente a temperatura ambiente; no tiene función biológica alguna y puede tomar diferentes formas químicas, tres de las cuales son importantes para el entendimiento de su comportamiento ambiental; éstas son:

- Mercurio elemental o metálico, el cual es líquido y volatiliza a temperatura ambiente; es la forma de mayor presencia en el aire y es prácticamente insoluble en agua. Se simboliza como Hg^0 .
- Mercurio inorgánico divalente, simbolizado como Hg^{2+} , forma sales con diferentes aniones y se ioniza inmediatamente. Las sales mercúricas son ligeramente solubles en agua, y en la atmósfera el Hg^{2+} se asocia inmediatamente con partículas y agua.
- Metilmercurio, que es la forma orgánica más importante del mercurio. El monometilmercurio, simbolizado como CH_3Hg^+ , es soluble en agua y es muy estable por la presencia de un enlace covalente carbono-mercurio. El dimetilmercurio, simbolizado como $(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$, es menos estable que la forma monometilada, y también es menos soluble en agua y es volátil¹⁰.

Al igual que para todos los metales, la cantidad absoluta del mercurio en el planeta no cambia. Por el contrario, tanto su localización como su forma química pueden cambiar fácilmente; la apreciación de estos cambios, en conjunto con la variedad de formas químicas antes mencionadas, es necesaria para el entendimiento de la toxicología ambiental de este metal. El mercurio es liberado hacia la atmósfera a través de un gran número de actividades humanas y también como resultado de fenómenos naturales. El mercurio entra a la atmósfera, a través de vías directas e indirectas, desde suelos, rocas, agua y sedimentos, al igual que desde sistemas vivos. El transporte de este metal en el ambiente depende de su forma química y del medio en el que se encuentre. En la biosfera, el mercurio llega a los sistemas terrestres y acuáticos desde la atmósfera como deposiciones húmedas y secas. Esta es la ruta

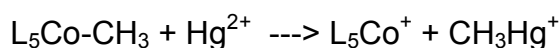
cuantitativamente más significativa por la cual los ecosistemas obtienen el mercurio y es una consecuencia de la volatilidad del mismo y de la de algunos de sus compuestos⁸.

De todas las transformaciones químicas que el mercurio puede llegar a sufrir en el ambiente, la más importante es la metilación. La metilación es la adición de uno o dos grupos metilo al mercurio divalente, resultando en la sustancia orgánica monometilmercurio (CH_3Hg^+) y dimetilmercurio $[(\text{CH}_3)_2\text{Hg}]$. Los ecosistemas que representan los principales sitios de producción de estas sustancias son los de aguas frescas y saladas.

Hasta hace poco, se creía que los únicos organismos que efectúan la metilación del mercurio en los sedimentos de los lagos eran las metanobacterias anaeróbicas; ahora se cree que, en sedimentos anóxicos, las bacterias sulfato-reductoras son los principales agentes de la metilación. Es probable que otros organismos sean capaces de metilar mercurio en cuerpos de agua, pantanos y suelos, pero a la fecha no se han identificado con certeza. Se ha demostrado, también, que la metilación abiótica puede ser llevada a cabo por la materia orgánica húmica como principal agente, pero, en situaciones naturales, este fenómeno probablemente representa menos del 10% de la producción total de metilmercurio⁸.

La metilación del mercurio está influenciada por diferentes factores ambientales, entre los cuales se incluye el pH bajo, que no sólo estimula la producción de metilmercurio sino que también incrementa la proporción de mercurio total disponible como sustrato para metilación. A pH bajos, la disponibilidad de mercurio parece aumentar porque se pierde menos mercurio del agua por volatilización que a condiciones neutras o alcalinas, y también porque la unión del mercurio a ciertas partículas incrementa a pH ácidos.

La reacción bioquímica más comúnmente citada para la metilación del mercurio es la transmetilación del mercurio inorgánico divalente de la vitamina B_{12} (metilcobalamina, simbolizada como $\text{L}_5\text{Co-CH}_3$) de acuerdo a la siguiente ecuación⁸.



El monometilmercurio no sólo es la forma química del mercurio que tiene los efectos más dañinos en los organismos vivos, sino que también es la forma que se acumula en los tejidos, notablemente en el músculo de los peces. Es por esto que se han hecho esfuerzos y énfasis considerables para dirigir estudios sobre la formación y el comportamiento de esta forma química, pues además de las diferencias en cuanto a las propiedades físicas y químicas, también exhibe un comportamiento biológico diferente con respecto a las formas elemental e inorgánica.

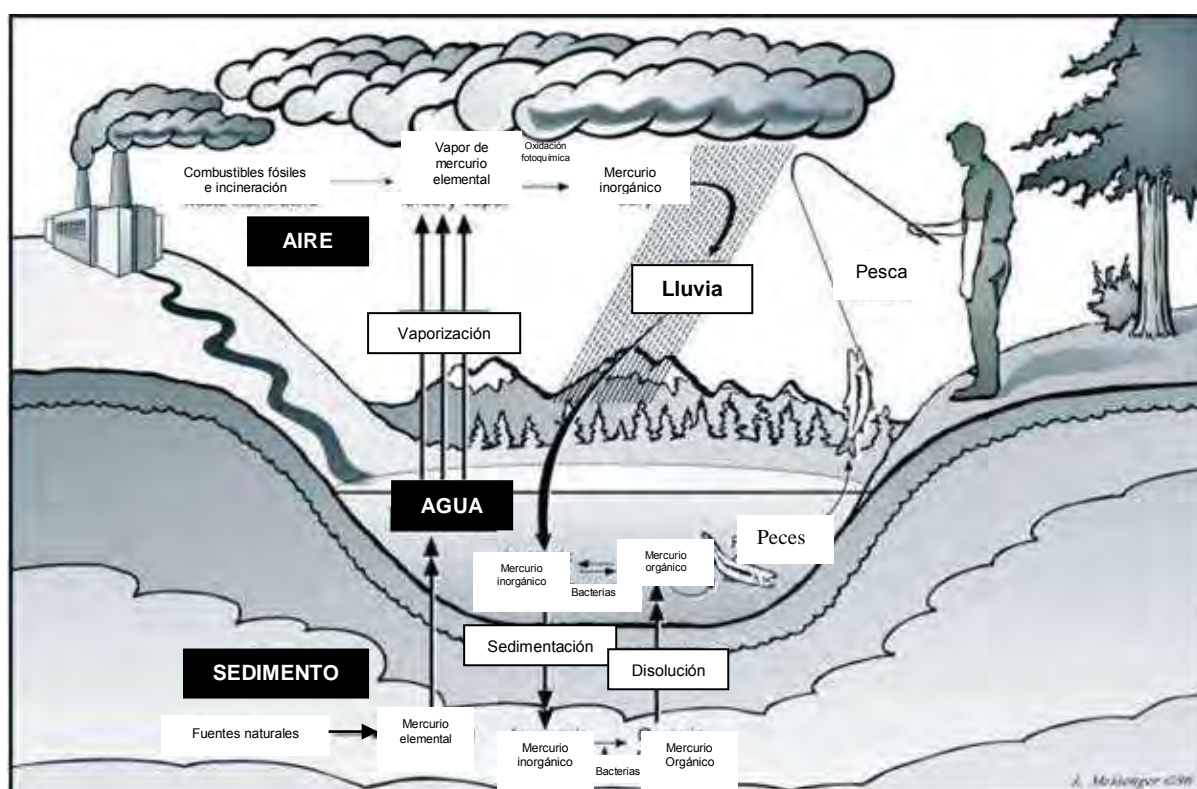
Tabla 2.2 Propiedades toxicológicas de las diferentes formas del mercurio

	Mercurio metálico (Hg ⁰ _(l))	Vapor de mercurio (Hg ⁰ _(g))	Mercurio inorgánico (Hg ⁺ y Hg ²⁺)	Mercurio orgánico
Vida media biológica	35-95 días	35-90 días	~ 40 días	~ 70 días
Absorción	Intestino: <0.1%; Piel: 15%	Pulmón: 90-100%; Piel: 15%	Intestino: ~ 7%	Intestino: 80-100%
Principal sitio de afectación	Cerebro, riñón.	Cerebro, pulmones, riñón.	Cerebro, riñón, tracto gastrointestinal	Cerebro, riñón. Feto.
Principal ruta de excreción (humanos)	Orina	Orina	Orina	90% en heces

FUENTE: Waring, R. H. et al. *Molecules of death*, 2007.[11]

El ciclo del mercurio se ha visto alterado por diferentes tipos de actividades antropogénicas, ya sea directa o indirectamente, resultando en la exposición humana y de los ecosistemas a diferentes formas de dicho elemento. En la figura 2.5 se muestra un esquema que ilustra el ciclo global del mercurio.

Figura 2.5 Ciclo biogeoquímico del mercurio.



FUENTE: http://www.mercury.utah.gov/atmospheric_transport.htm [12]

Los expertos coinciden en que el transporte atmosférico del mercurio es, por mucho, la vía más significativa cuantitativamente hablando. Debido a su gran movilidad, el mercurio que es depositado dentro de un ecosistema desde una fuente particular de contaminación puede ser reemitido más tarde hacia la atmósfera y, de esta manera, contribuir a las fuentes aparentemente naturales.

2.4.2 Toxicidad del mercurio y población en riesgo.

El mercurio presenta diferentes efectos adversos en todas las formas de vida; los efectos específicos dependen de diversos factores que incluyen la forma química y la concentración en la que es administrado, la ruta de administración y el tipo de organismo, entre otros.

El mercurio, en contraste con otros metales, existe como organometal y éste se comporta más como un contaminante orgánico que como inorgánico. El monometilmercurio es capaz de atravesar fácilmente las membranas

biológicas, siendo así la forma del mercurio con mayor biodisponibilidad y toxicidad. Además, tiene también el tiempo de vida media más prolongado; en los humanos, el tiempo de vida media del mercurio inorgánico es de cuarenta días, mientras que la del metilmercurio es de alrededor de setenta días⁸.

La exposición al metilmercurio generalmente ocurre por ingestión de alimentos contaminados y los organismos que corren mayor riesgo son consumidores que se encuentran en los niveles más altos de la cadena alimenticia, específicamente humanos, animales domésticos y de vida salvaje. Para los mamíferos, el metilmercurio es una neurotoxina y por su acción en el cerebro los síntomas de intoxicación incluyen afasia, ataxia, convulsiones e incluso la muerte. A dosis mayores a aquellas que provocan los síntomas neurológicos, otros sistemas pueden ser afectados, como el renal, el cardiovascular y el digestivo. Las formas de vida más simple son menos susceptibles que los vertebrados superiores al envenenamiento por mercurio, y se dice que las poblaciones en mayor riesgo, de acuerdo al proceso que sufre el mercurio a través de los ecosistemas, son aquellas que se encuentran en niveles tróficos superiores, tales como depredadores de vida salvaje.

El síndrome en los humanos, resultado de la exposición al metilmercurio, ha sido nombrado enfermedad de Minamata. El primer registro a nivel epidémico de envenenamiento ambiental de metilmercurio, que provocó síntomas neurológicos severos como los anteriormente descritos, ocurrió en una villa de pesca japonesa llamada Minamata, en 1953. En ese entonces, ocurrieron cerca de cien muertes en un periodo de algunos años y todavía más casos de enfermedades serias; el hecho particularmente trágico fue el nacimiento de algunos niños con la enfermedad, habiendo sido expuestos *in utero* a través de la sangre de sus madres, aún cuando las mujeres embarazadas no siempre presentaban los síntomas. Aunque inicialmente la fuente o el agente de la enfermedad neurológica epidémica no era conocido, en poco tiempo se identificó que éste era el mercurio, y que el metal había sido liberado de una planta química de la bahía, en donde se llevaba a cabo mucha de la actividad pesquera. El pescado era el principal componente de la dieta de los habitantes de la villa y de sus animales domésticos, y el mercurio se había

acumulado en este producto alimenticio. En esta situación, se piensa que el mercurio, en vez de haber sufrido una metilación ambiental, fue liberado ya en su forma metilada⁸.

La segunda mayor epidemia ocurrió en Iraq en 1971, cuando una carga de grano tratada con metilmercurio como fungicida, y que suponía ser utilizada como semilla, fue utilizada para hacer harina, la cual, a su vez, fue utilizada en la elaboración de pan. Aproximadamente seis meses después de esto, se admitieron en el hospital alrededor de seis mil quinientos treinta casos de envenenamiento y un total de diez mil personas resultaron enfermas. Los registros hospitalarios atribuyeron cuatrocientas cincuenta y nueve muertes por metilmercurio, pero ahora se sabe que es probable que tres mil setecientas veintitrés personas hayan muerto por esta causa y que muchas otras más sufrieron daños permanentes.

Las causas por las que los pueblos de Minamata e Iraq fueron expuestos al metilmercurio fueron diferentes; el pescado contaminado representó una fuente del metal a largo plazo con relativamente bajas concentraciones de metilmercurio, mientras que las exposiciones en Iraq fueron de concentraciones extremadamente altas en corto tiempo. Sin embargo, las manifestaciones resultantes del envenenamiento fueron similares tanto en éstos como en muchos otros de los casos conocidos. Los síntomas comunes son relativamente fáciles de identificar, pero no se cuenta aún con certeza considerable de los posibles efectos adversos de una exposición menor y, a menudo, crónica. Es obvio que la concentración de metilmercurio es uno de los factores que se debe tomar en cuenta para la protección de la población que puede llegar a recibir dicho contaminante, pero debido a que son pocas las fuentes de alimento que llegan a acumular esta sustancia, la composición de la dieta es también un factor determinante del riesgo que se corre⁸.

En cuanto al mercurio inorgánico se refiere, se sabe que es el riñón el órgano de almacenamiento principal después de una administración de mercurio elemental u otra de sus formas inorgánicas. Sin embargo, después de la inhalación tanto de mercurio elemental como de metilmercurio, grandes

cantidades del metal son transportadas al cerebro. Una alteración psicológica es una de las primeras manifestaciones del envenenamiento por mercurio inorgánico, caracterizándose por insomnio, explosiones de ira y sensibilidad emocional; también se sabe que se pueden presentar temblores después de una larga exposición al mercurio¹⁰.

Los estudios acerca de los síndromes clínicos ocasionados por intoxicación con mercurio inorgánico son muy pocos, pero se sabe que puede haber cierta pérdida de células granulares del cerebelo, por necrosis, por dicho fenómeno. Además, diversos estudios relacionan al ion Hg^{2+} y al metilmercurio con alteraciones de la homeostasis del Ca^{2+} , la cual ha sido demostrada en preparaciones neuro-musculares, sinaptosomas, mitocondrias y cultivos celulares; estas alteraciones son referentes al flujo de entrada y salida de calcio¹⁰.

CAPÍTULO 3

PRINCIPIOS BÁSICOS DE LA TÉCNICA INSTRUMENTAL Y DE LOS MÉTODOS EXPERIMENTALES

3.1 TÉCNICA INSTRUMENTAL: ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

La espectrometría de absorción atómica (EAA) es una técnica ampliamente utilizada y aceptada, capaz de determinar niveles traza ($\mu\text{g/mL}$) de elementos o metales en una amplia variedad de muestras, incluyendo muestras biológicas, clínicas, ambientales, alimenticias y geológicas, con una buena exactitud y una precisión aceptable. A pesar de que presenta algunas limitaciones, es la técnica predominante en análisis elemental.

La EAA involucra el cambio de la luz a una longitud de onda específica de átomos en un estado basal previamente generados; los átomos absorben esta luz y entonces ocurre una transición a un nivel de energía mayor. La intensidad de esta transición está relacionada con la concentración original de los átomos en estado basal. Esto se puede representar como:

$$T = P / P_0$$

En donde T es la transmitancia, P es la energía de la fuente de luz pasando a través de la zona de la muestra y P_0 es la energía de la fuente de luz antes de pasar por la zona de la muestra. La zona de la muestra de longitud b , es relativamente larga para maximizar la cantidad de luz absorbida por los átomos. La cantidad de luz absorbida depende del coeficiente de absorción atómica, k . Este valor está relacionado al número de átomos por cm^3 en la celda, n , a la probabilidad para el proceso de absorción y a la diferencia de energía entre los dos niveles de transición. Estas constantes son combinadas en una sola para fines prácticos, y se llama absortividad, a ; la absortividad está relacionada exponencialmente con la transmitancia de la siguiente manera:

$$T = P / P_0 = e^{-bk}$$

En la práctica, la absorbancia, A , se utiliza en la espectrometría de absorción atómica, y está relacionada logarítmicamente a la transmitancia como se indica a continuación:

$$A = -\log T = -\log P / P_0 = \log P_0 / P = \log 1 / T = kb \log e = 0.43 kb$$

La Ley de Lambert y Beer relaciona la absorbancia con la concentración de un elemento en una celda, c , como se muestra a continuación:

$$A = abc \quad \text{o} \quad A = \varepsilon_0 bc$$

En esta ecuación, a es la absorptividad en $\text{g L}^{-1} \text{cm}^{-1}$, ε_0 , es la absorptividad molar en $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$, y b es la amplitud de la celda en cm . La EAA involucra la medición de la disminución de la intensidad de la luz de P_0 a P , dependiendo de la concentración del elemento¹³.

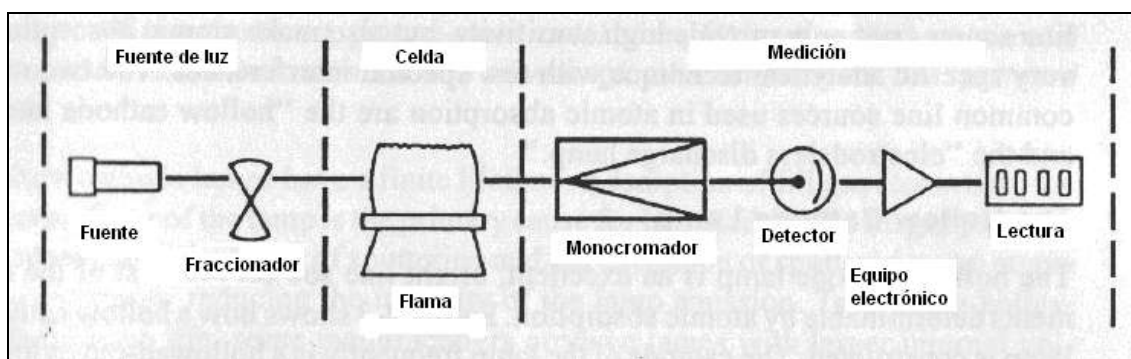
3.1.1 Instrumentación de la técnica

Un espectrómetro de absorción atómica consiste esencialmente de seis principales componentes:

- Fuente de radiación (luz).
- Celda.
- Sistema de introducción de la muestra.
- Monocromador.
- Sistema de detección.
- Lector.

En la figura 3.1 se esquematizan los principales componentes de un espectrómetro de absorción atómica (flama).

Figura 3.1 Diagrama esquemático de un espectrómetro de absorción atómica.



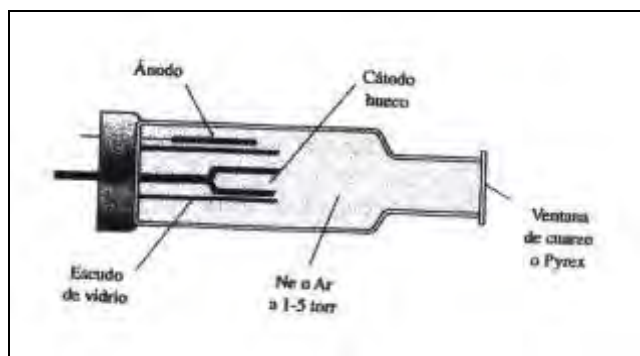
Fuente: *Instrumentation and Techniques in Atomic Absorption Spectrophotometry*, 2002. [14]

En la EAA la fuente de radiación más utilizada, y aceptada, es la lámpara de cátodo hueco; ésta consiste de un ánodo de tungsteno y un cátodo cilíndrico sellado en un tubo de vidrio que contiene un gas inerte, como argón o neón, a una presión de 1 a 5 torr. El cátodo puede estar tanto fabricado del analito metálico o servir como un soporte de una envoltura de dicho metal.

Cuando se aplica un voltaje de aproximadamente 300 V a través de los electrodos, el gas inerte se ioniza y se genera una corriente de 5 a 10 mA cuando los cationes y electrones del gas migran hacia los electrodos. Si el potencial es lo suficientemente grande, los cationes del gas golpean al cátodo con la suficiente energía para desplazar algunos de los átomos metálicos y producir así una nube atómica. A este proceso se le conoce como "sputtering". Algunos de los átomos metálicos se encuentran en un estado excitado y emiten su longitud de onda característica mientras regresan a su estado basal. Es importante recordar que los átomos que producen las líneas de emisión en la lámpara están a una temperatura y presión significativamente más bajas que los átomos del analito en la flama. Así, las líneas de emisión provenientes de la lámpara se amplifican menos que los picos de absorción en la flama. Los átomos metálicos que fueron desplazados se difunden, eventualmente, de regreso a la superficie del cátodo o a las paredes de la lámpara, donde son depositados¹⁵.

En la figura 3.2 se muestra un esquema de una lámpara de cátodo hueco de un solo elemento.

Figura 3.2 Esquema de una lámpara de cátodo hueco de un solo elemento.



Además de las lámparas de cátodo hueco, pueden utilizarse lámparas de descarga sin electrodos como fuente de radiación, pero son menos estables que las primeras. Existen también lámparas de descarga de presión, lámparas de gradiente térmico y plasmas, las cuales no han sido adoptadas ampliamente más que para investigación u otras tareas específicas.

En la EAA la muestra, generalmente, se introduce en una flama, ya sea nebulizada o en aerosol. Las flamas consisten en un oxidante y un combustible; las más utilizadas son las llamadas flamas de combustión, como la de aire-acetileno o la de óxido nítrico-acetileno. El principal objetivo de la flama es el de disociar las moléculas de la muestra en átomos. Para una máxima sensibilidad en la EAA, se necesita de una flama larga y fina.

El sistema de introducción de la muestra debe asegurar la transferencia de la misma reproducible y eficiente al atomizador. Este sistema, además de ser reproducible por numerosas ocasiones, no debe producir interferencias ni tampoco tener efectos de “memoria” o sobrecarga; debe ser independiente al tipo de muestra y ser universal para todos los tipos de atomizadores o de técnicas de espectroscopia atómica.

Algunos de los factores que pueden influenciar el tipo de sistema de introducción de la muestra que se va a emplear en la técnica son los siguientes:

- a) Cantidad de muestra disponible.
- b) Estado físico de la muestra.
- c) Características deseables del proceso analítico (precisión, exactitud y límite de detección).
- d) Tipo de atomizador.

Los sistemas de introducción de la muestra más utilizados en EAA son los nebulizadores neumáticos.

En la EAA, la principal función de un monocromador es la de aislar la longitud de onda de interés de otras longitudes de onda que puedan provenir de la fuente de radiación y de la luz emitida por otros elementos en la flama. Debido a que la EAA es un método muy selectivo y no tiene, virtualmente, interferencias espectrales, el monocromador no necesita tener una alta resolución; generalmente, una resolución de 0.02 a 2 nm es adecuada.

En una medición de absorción atómica es necesario discriminar entre la radiación que se origina del cátodo hueco de aquella que proviene del atomizador de la muestra. Mucha de la radiación procedente del atomizador se elimina por medio del monocromador, el cual está siempre localizado entre el atomizador de la muestra y el detector. La excitación térmica de una fracción del analito en la flama, sin embargo, produce radiación de la longitud de onda a la cual el monocromador está ajustado. Debido a que esta radiación no es eliminada, actúa como una fuente potencial de interferencia.

El efecto de la emisión del analito se resuelve por modulación de la producción de la lámpara de cátodo hueco con el objeto de que la intensidad de la misma fluctúe a una frecuencia constante. Así, el detector recibe una señal alternada de la lámpara de cátodo hueco y una señal continua de la flama, convirtiendo estas señales en los tipos de corriente eléctrica correspondientes. Un sistema electrónico relativamente simple elimina la señal no modulada producida por la flama y pasa la señal de la fuente a un amplificador y finalmente a un dispositivo de lectura.

El sistema de detección más utilizado en EAA es el tubo fotomultiplicador, el cual se encarga de captar los fotones emitidos en el proceso, los convierte en impulsos electrónicos y los multiplica hasta obtener una intensidad eléctrica adecuada.

En cuanto al sistema de lectura se refiere, actualmente se utilizan instrumentos digitales y equipos de cómputo externos.

3.1.2 Características de la técnica.

La espectrometría de absorción atómica es una técnica en la que es posible determinar concentraciones tan bajas como partes por billón y tan altas como porcentaje en peso con una mínima o no necesaria preparación de la muestra. La cantidad de muestra requerida para esta técnica es muy pequeña, como volúmenes de microlitros o masa de microgramos.

La muestra a analizar puede ser cualquier sólido, líquido o gas. La mayoría de las muestras son homogeneizadas en solución antes de ser analizadas; las muestras acuosas pueden ser analizadas directamente, mientras que las sólidas deben ser digeridas o disueltas. Esta técnica requiere de sustancias químicas ultrapuras para la preparación de la muestra.

El tiempo total del análisis depende de la preparación de la muestra; después de la calibración del equipo, la determinación dura aproximadamente 10 s para la Espectrometría de Absorción Atómica a la flama¹³.

Algunas de las limitaciones de la técnica implican la preparación de la muestra, la cual puede consumir tiempo; otra desventaja es que la técnica no provee información sobre la forma química del metal que se está determinando; por último, ésta es una técnica destructiva, es decir, la muestra analizada no puede ser recuperada.

La exactitud de la técnica depende de la complejidad de la matriz. Una solución homogénea a un nivel analito de cinco a diez veces por encima del

límite de detección, dará una exactitud mejor que $\pm 1\%$. La exactitud se reduce a un límite de detección de $\pm 1-3\%$ o cerca de éste¹⁵.

Para el análisis cuantitativo de cierto elemento por medio de la Espectrometría de Absorción Atómica se necesita de una comparación con estándares, pues este método, como muchos otros, no es absoluto. Se construye, por lo tanto, una curva de calibración con una solución de concentración conocida; posteriormente, se lleva a cabo la medición de la muestra a analizar y los datos se comparan con los obtenidos de la medición de la curva de calibración. Para la construcción lineal de la curva de calibración se utilizan por lo menos cuatro estándares y un blanco, de donde se obtiene un gráfico de absorbancia contra concentración del analito de interés. Es recomendable, que la concentración de la muestra a analizar se encuentre en el intervalo de concentraciones establecidas para la curva de calibración; en caso de sobrepasar el punto más alto de la curva o estar por debajo del punto de menor concentración de la misma, se debe proceder a realizar ya sea una dilución o una concentración de la muestra, respectivamente. Debido a que se presenta una deficiencia de linealidad por encima de dos a tres órdenes del límite de detección del método, la extrapolación de datos no es recomendable en estos casos.

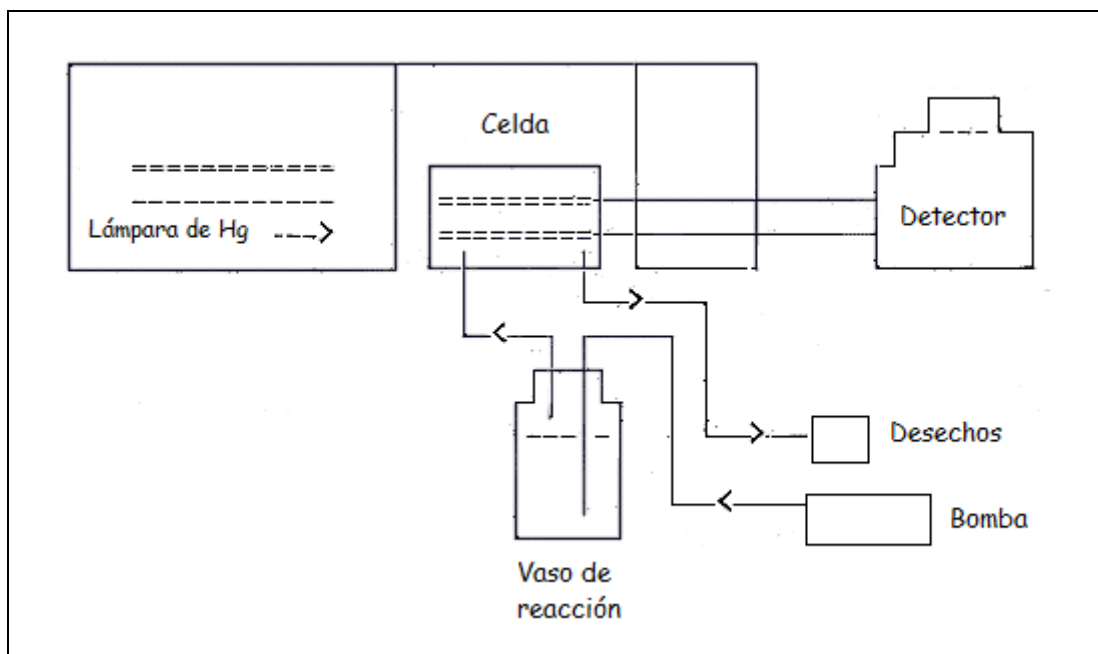
3.1.3 Espectrometría de Absorción Atómica por Vapor Frío.

Debido a que, a temperatura ambiente, los átomos de mercurio están en forma libre, el mercurio puede ser determinado por absorción atómica sin necesidad de calentar la celda de la muestra.

En la técnica de vapor frío el mercurio es reducido químicamente al estado atómico libre por medio de la reacción con un agente reductor fuerte como cloruro de estaño o borohidruro de sodio. El mercurio volátil liberado es transportado del sistema de reacción por medio un burbujeo de aire o argón; los átomos de mercurio son entonces arrastrados en la corriente gaseosa hacia una celda de absorción, la cual se encuentra localizada en el paso de la luz del espectrómetro de absorción atómica. En la figura 3.3 se muestra un diagrama

de los componentes principales de un espectrofotómetro de absorción atómica por vapor frío.

Figura 3.3 Diagrama de los componentes principales de un espectrofotómetro de absorción atómica por vapor frío.



FUENTE: Occupational Safety & Health Administration, USA (2009). [16]

Durante el paso de los átomos de mercurio a través de la celda de muestreo, las mediciones de absorbancia se elevan, indicando un aumento de la concentración de átomos de mercurio en el paso de luz. Algunos sistemas permiten el paso del vapor de mercurio desde el tubo de absorción hacia los residuos, en cuyo caso la absorbancia llega a un pico máximo y después cae mientras el mercurio es eliminado; la absorbancia más alta observada durante la medición es la que se toma en consideración como señal analítica. Otro tipo de sistemas representan un circuito cerrado y consideran la medición de absorbancia como señal analítica cuando se alcanza un equilibrio en el sistema.

Este proceso se puede llevar a cabo de manera automatizada mediante el uso de técnicas de inyección de flujo; así, las muestras pueden ser analizadas por duplicado a una tasa de una muestra por minuto sin necesidad de la intervención de un operador y con límites de absorción comparables a

aquellos que se obtienen en procesos manuales. Además, el uso de sistemas de inyección minimiza la cantidad de reactivos requeridos para la determinación.

En adición a lo ya mencionado, otras de las ventajas que ofrece esta técnica son una mayor sensibilidad (con respecto a la técnica de la flama) y límites de detección de aproximadamente 0.02 $\mu\text{g/L}$. la desventaja del método es que sólo es útil para la determinación de mercurio¹⁴.

En la tabla 3.1 se hace una comparación de la técnica de absorción atómica utilizada para diferentes elementos.

Tabla 3.1 Elementos determinados mediante las diferentes técnicas de absorción atómica.

Técnica	Flama	Grafito	Vapor frío	
Elementos	Aluminio	Manganeso	Arsénico	
	Antimonio	Molibdeno	Berilio	
	Bario	Níquel	Cadmio	
	Berilio	Potasio	Cromo	
	Cadmio	Plata	Cobalto	
	Calcio	Plomo	Hierro	
	Cromo	Sodio	Molibdeno	
	Cobalto	Talio	Plomo	
	Cobre	Vanadio	Selenio	
	Hierro	Zinc	Talio	
	Magnesio			
				Mercurio

Fuente: Environmental Protection Agency, Method 3050B (1996). [17]

3.2 DETERMINACIÓN DE MERCURIO TOTAL

La determinación del mercurio total está basada en el método de digestión ácida para sedimentos, lodos y suelos (3050B) propuesto por la Agencia de Protección Ambiental (EPA, por sus siglas en inglés), el cual consiste en una digestión ácida fuerte que disuelve a casi todos los elementos que puedan llegar a convertirse en “ambientalmente disponibles”¹⁷.

En resumen, una cantidad representativa de muestra es digerida con adiciones repetidas de ácido nítrico (HNO_3) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2) a una temperatura de 90-95°C; posteriormente, se añade ácido clorhídrico (HCl) a la muestra para someterla a reflujo a la misma temperatura de la digestión. Finalmente, y una vez a temperatura ambiente, la muestra es filtrada y llevada a un volumen de 100mL. Además, con fines de control de calidad, se considera la elaboración de un blanco por cada lote de muestras que se sometan al proceso de digestión; esto con el objeto de determinar si las muestras pueden estar contaminadas.

Los reactivos utilizados en este método deben tener un grado de reactivo analítico o, en su defecto, contar con el grado de pureza suficiente que permita que su uso no afecte la exactitud de la determinación de los elementos por Absorción Atómica¹⁷.

3.3 ESPECIACIÓN QUÍMICA SECUENCIAL

Por especie química se entiende la forma específica en que un elemento dado se encuentra respecto a su estado de oxidación, estructura molecular y/o composición isotópica. En cuanto al término de especiación química se refiere, la IUPAC lo ha definido como “la clara identificación y cuantificación de las diferentes especies químicas de un mismo elemento presentes en una muestra o matriz real”; así mismo, se establece que “la suma de todas las especies debe corresponder al contenido total del elemento en la muestra estudiada”. Estrictamente hablando, la especiación química se refiere al establecimiento de

las formas iónicas y moleculares en que se encuentran los compuestos de un elemento dado en una muestra¹⁸.

En el caso del mercurio, se han descrito diferentes métodos de especiación desde los años ochenta, lo cuales están basados, principalmente, en extracciones secuenciales de las especies químicas de dicho elemento de una muestra. El objetivo de estas técnicas es el del estudio de los compuestos del mercurio presentes en suelos y sedimentos mediante el tratamiento de estas muestras a diferentes tipos de disolventes, para así obtener información acerca del comportamiento y la unión del mercurio en la matriz. Las diferencias entre los métodos reportados en la literatura radican, básicamente, en los tiempos y/o temperaturas de extracción, al igual que en los disolventes utilizados para sendo proceso.

Entre las fracciones del mercurio que se identifican en común en los diferentes métodos de especiación química se encuentran:

- a) Especies solubles en agua.
- b) Especies intercambiables, las cuales, representan a la fracción del mercurio total que puede ser intercambiada desde sitios activos como lodos, materia orgánica, óxidos e hidróxidos de hierro y manganeso utilizando disoluciones acuosas de magnesio o acetato de amonio.
- c) Especies organometálicas, que corresponden a las especies de mercurio unidas a la materia orgánica de los suelos.
- d) Especies fuertemente enlazadas, o complejadas, que son las especies unidas a compuestos de manganeso y hierro, y también especies de mercurio orgánicamente enlazado; la extracción se logra mediante la protonación de los sitios orgánicos, intercambiando y liberando así al mercurio de ciertos minerales.
- e) Sulfuros, principalmente el mercurio en forma de cinabrio presente en las muestras¹⁸.

Hay que recordar que la importancia de la determinación de las especies químicas radica en que las propiedades fisicoquímicas de cierto compuesto son

una función, en este caso, del anión al que esté asociado el mercurio; por lo tanto, la movilidad, la absorción, la biodisponibilidad y los efectos tóxicos que este metal pueda llegar a producir en el organismo serán, a su vez, determinados por la especie química presente.

3.4 ENSAYO DE BIODISPONIBILIDAD *IN VITRO*

Debido a que las posibles rutas de exposición al mercurio presente en las muestras de estudio pueden llegar a ser desde la ingestión de cultivos contaminados, hasta la ingestión accidental por parte de niños pequeños que pudieran llevar a cabo actividades recreativas en las áreas afectadas, la evaluación de la biodisponibilidad oral de este metal es de gran relevancia. La biodisponibilidad de una sustancia o compuesto está definida como la fracción de la misma que alcanza la circulación sistémica, asumiendo que la toxicidad que presenta se da por el compuesto como tal y no por los metabolitos que de éste puedan resultar.

Los contaminantes que, mediante una determinada ruta de exposición, ingresan a un organismo vivo pueden ser liberados, ya sea parcial o totalmente, durante los procesos gastrointestinales. En el sistema gástrico, la porción del contaminante que se libera por la acción de los jugos digestivos es conocida como fracción bioaccesible; ésta representa la cantidad máxima del contaminante que está disponible para posteriormente ser absorbida, mediante algún proceso celular, a través de la pared intestinal. Lo anterior permite el transporte del contaminante a la corriente sanguínea; entonces, esta sustancia puede sufrir el efecto del primer paso, en el que es biotransformada y luego excretada por el epitelio intestinal o el hígado, o puede también no ser metabolizada y expandirse por el cuerpo mediante la circulación sistémica, lo que conllevaría a ejercer su toxicidad. Por lo tanto, la biodisponibilidad oral de contaminantes es resultado de su ingestión, bioaccesibilidad, absorción y el efecto del primer paso¹⁹.

La evaluación de la biodisponibilidad es una metodología adaptada basada en la Prueba de Extracción Fisiológica (PBET por sus siglas en inglés), la cual consiste en un sistema de prueba *in vitro* que sirve para predecir la liberación de metales en una matriz, y en donde se incorporan parámetros característicos del tracto gastrointestinal humano, incluyendo pH, química estomacal e intestinal y considerando condiciones tanto de mezclado como de vaciado estomacal.

Esta prueba está diseñada para la estimación *in situ* de la biodisponibilidad de un metal presente en suelo después de haber sido ingerido; específicamente, se diseñó tomando en cuenta que la población en mayor riesgo de exposición por ingestión accidental del suelo son niños pequeños de dos a tres años de edad.

De acuerdo a lo reportado en la literatura, los valores de pH gástrico seleccionados para la prueba PBET son de 1.3 para la etapa de ayuno, de 2.5 para la etapa intermedia entre ayuno-ingestión de alimento, y de 4.0 para la ingestión reciente de alimento. En cuanto al pH intestinal, esta prueba utiliza un valor de 7.0, que es el valor promedio en humanos²⁰.

La tabla 3.2 indica la composición de la solución gástrica utilizada en esta prueba:

Tabla 3.2 Composición de las solución gástrica.

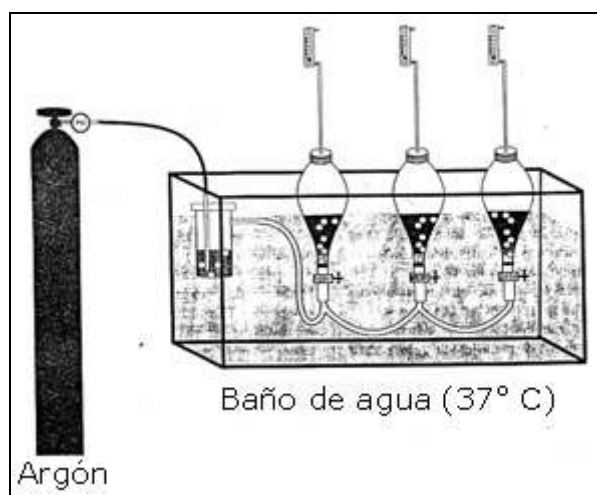
Sustancia	Cantidad
Pepsina	1.25 g
Citrato	0.5 g
Malato	0.5 g
Ácido Láctico	420 μ L
Ácido Acético	500 μ L
Agua Destilada*	1 L

*El agua destilada se acidificó con ácido clorhídrico para que la solución tuviera pH 2.

Para lograr las condiciones intestinales, una vez concluida la toma de muestras en condiciones gástricas, es necesario elevar el pH de la solución a un valor neutro, es decir, pH 7; además, se considera la secreción de pancreatina y sales biliares como agentes relevantes en el proceso intestinal.

El sistema experimental PBET, tal como se observa en la figura 3.4, está diseñado de tal manera que, como ya se ha mencionado, cumpla con los parámetros del tracto gastrointestinal humano.

Figura 3.4 Esquema del sistema experimental PBET.



Fuente: Ruby, et al (1996). [20]

Es importante destacar que la prueba PBET sólo considera condiciones del trato gastrointestinal en ayuno y que de ello dependen los resultados obtenidos en la misma, pues es bien sabido que la presencia de alimentos en el organismo puede representar cierta alteración de los niveles de absorción de los contaminantes en estudio.

CAPÍTULO 4

DESARROLLO EXPERIMENTAL

El desarrollo experimental de este trabajo se dividió en cuatro etapas principales, las cuales son:

- 1) Ubicación geográfica de la zona de estudio, selección y ubicación de los puntos de muestreo; muestreo de los suelos contaminados.
- 2) Análisis de la concentración total de mercurio, plomo y plata.
- 3) Especiación química secuencial del mercurio.
- 4) Desarrollo del ensayo de biodisponibilidad *in vitro*.

En los siguientes apartados, se describe detalladamente cada una de estas etapas.

4.1 MUESTREO DE LOS SUELOS CONTAMINADOS

Para llevar a cabo la toma de las muestras, se diseñó un plan de muestreo, el cual, se basó en la Norma la Mexicana NMX-AA-132-SCFI-2006²¹, que señala los criterios para la toma de muestras; la norma establece que se deben considerar, como mínimo, los siguientes puntos:

- a) Lugar y fecha.
- b) Nombre y la firma de los responsables de su elaboración.
- c) Tipo de muestreo a desarrollar, el propósito del mismo y los parámetros a determinar.
- d) Localización del sitio, así como la delimitación y cuantificación de la superficie del área de muestreo; indicando en forma gráfica y/o escrita la localización geográfica y las vías de acceso al sitio.
- e) Diseño del muestreo.
- f) Justificación para la ubicación, los criterios utilizados y método; parámetros de campo, número de puntos de muestreo y número de muestras.
- g) Profundidad de las muestras.

- h) Procedimiento de muestreo, materiales, equipos de muestreo y seguridad, recipientes, etiquetas y registros de campo (bitácora de muestreo).
- i) Custodia de las muestras.
- j) Procedimiento de aseguramiento y control de calidad del muestreo.
- k) Descripción de actividades, responsables y tiempos de ejecución.
- l) Anexos que soporten el plan de muestreo.

Para la ubicación geográfica de las zonas de estudio y su localización en mapas cartográficos se tomaron como base los antecedentes documentados de los sitios contaminados con residuos mineros, tomando en cuenta, principalmente, los siguientes criterios:

- a) Los yacimientos que involucran la presencia de mercurio antropogénico,
- b) la población expuesta,
- c) producción de plata y oro (en la época colonial), y
- d) la accesibilidad al sitio.

En la tabla 4.1 se enlistan las regiones mineras del estado de Querétaro, distritos y el tipo de yacimiento presente en los mismos. Estos fueron los datos que se consideraron para la selección de los sitios de muestreo.

Los trabajos de campo, realizados por la M. en I. Irma C. Gavilán García, se centraron en las poblaciones de San Joaquín y Pinal de Amoles. Es importante señalar que para llevar a cabo dichos trabajos se estableció contacto con la delegación estatal de la SEMARNAT para que ésta formara parte de los trabajos, así como para retroalimentar la información del sitio.

Tabla 4.1 Regiones mineras, distritos y yacimientos mineros del estado de Querétaro.

Región (habitantes)	Distrito	Población involucrada	Yacimiento	Fuente de Hg	Producción (Ton/año)
Pinal de Amoles (25 325)	Ánimas	Pinal de Amoles	Metálico (Pb, Zn, Ag, Au)	Colonia (1557)	600 000
	Río Blanco	Camargo/Río Blanco	Metálico (Pb, Zn, Ag, Au)	Colonia (1557)	4 500
	El Soyatal		Metálico (Sb)	ND	ND
	Plazuela-Bucareli	NA/Minera La Tranca	Metálico (Hg)	Cinabrio	50
San Joaquín (7 634)	Maconi		Metálico (Pb, Zn, Ag, Cu)	ND	300 000
	Santo Entierro/ Nepomuceno	S. Joaquín/ S. Cristóbal/ S. Gracia	Metálico (Pb, Zn, Ag, Cu)	Colonia	ND
	Calabacillas	S. Joaquín/ S. Cristóbal/ S. Gracia	Metálico (Hg)	Cinabrio	200
Cadereyta	Marmolero Vizarrón		No Metálico	ND	ND
	Coahuila		Metálico (Sb, Au)	ND	ND
Bernal	San Martín	NA/ Minera Luismin	Metálico (Ag, Au)	Colonia (1760)	300 000
	Caleras San Antonio		No Metálico	ND	ND
Colón	Opalo Tequisquiapan		No Metálico	ND	ND
	Caolín Ezequiel Montes		No Metálico	ND	ND
Querétaro	San Pedrito	Rancho San Pedrito	Metálico (Ag, Au)	Colonia (1870)	ND
	La Cañada		No Metálico	ND	ND
Amealco	Sillar		No Metálico	ND	ND

Elaboración propia.

ND= No Disponible

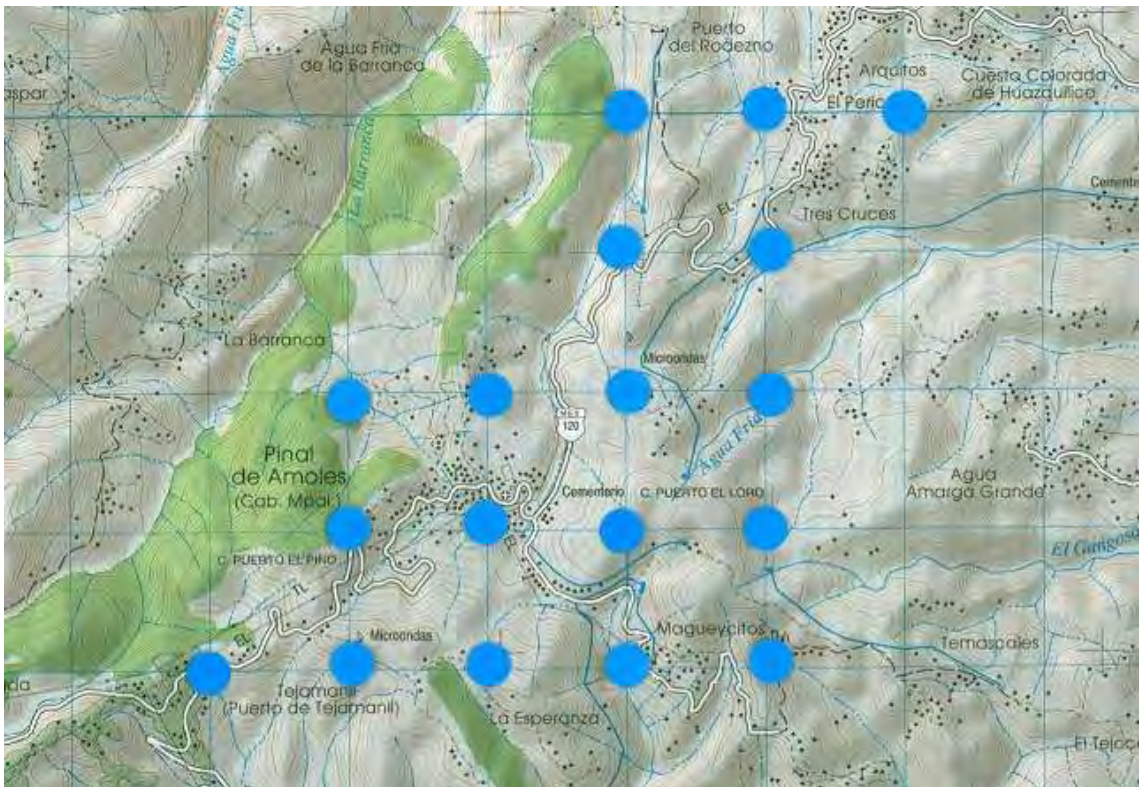
De acuerdo a lo anterior y a la Norma Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004²², cuyo objetivo es el de establecer los criterios para la determinación de concentraciones de remediación de suelos contaminados por diferentes elementos químicos, entre ellos, el mercurio, y sus compuestos inorgánicos, así como los criterios de remediación de los mismos, se procedió a llevar a cabo un muestreo de campo de tipo exploratorio (dada la carencia de datos que sirven de antecedentes) para la determinación de la concentración total del metal en las muestras de San Joaquín y Pinal de Amoles.

En las figuras 4.1 y 4.2 se muestran los mapas de muestreo propuesto para el estudio de campo.

Figura 4.1 Mapa de muestreo propuesto para el municipio de San Joaquín.



Figura 4.2 Mapa de muestreo propuesto para el municipio de Pinal de Amoles.



La concentración de referencia total, la cual es definida en la norma como aquella que por encima de la cual se considera que existe un riesgo de que se generen efectos adversos para la salud, de acuerdo al tipo de uso de suelo para el mercurio como contaminante son:

Tabla 4.2 Concentraciones de Referencia Totales por tipo de uso de suelo.

Contaminante	Uso agrícola/residencial/comercial (mg/kg)	Uso industrial (mg/kg)
Mercurio	23	310

FUENTE: NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 [22]

El muestreo de los suelos de los municipios de Pinal de Amoles y San Joaquín del Estado de Querétaro se realizó en base a la Norma Mexicana NMX-AA-132-SCFI-2006²¹, la cual habla del muestreo de suelos para la identificación y la cuantificación de metales y metaloides, manejos de la muestra y tipos de muestreo que se pueden llevar a cabo dependiendo del objetivo del estudio.

En este caso, tal y como fue mencionado con anterioridad, el muestreo que se efectuó fue de tipo exploratorio, el cual tiene por objetivo la obtención de muestras de suelo que sean representativas. Para efectos de este trabajo, la toma de muestras se llevó a cabo de manera superficial a 30cm de profundidad.

El método empleado para la distribución de los puntos de muestreo en este estudio, fue el muestreo sistemático, el cual está basado en un patrón geométrico específico donde las muestras son tomadas a intervalos regulares a lo largo de dicho patrón; la primera muestra se eligió aleatoriamente, y el resto se escoge de acuerdo al patrón seleccionado. En este caso, se realizó por medio de una cuadrícula sobrepuesta a toda la extensión de la zona de estudio, siendo el tamaño de los cuadros dependiente del número de puntos de muestreo, al igual que de la accesibilidad a los sitios. El número de puntos de muestreo se calculó, también, en base a lo establecido en la NMX-AA-132-SCFI-2006²¹. En total, se obtuvieron veintitrés muestras, once correspondientes

al municipio de Pinal de Amoles y doce al municipio de San Joaquín, estableciendo doce puntos como mínimo para el muestreo exploratorio.

En las tablas 4.3 y 4.4 se muestran las bitácoras del muestreo realizado en los municipios de San Joaquín y de Pinal de Amoles, respectivamente. Es importante señalar que los trabajos de campo se desarrollaron en temporada seca, en el mes de del 2008.

Tabla 4.3 Bitácora de trabajo de campo del municipio de San Joaquín.

Muestra	Coordenadas: Latitud, Longitud y Altitud	Uso de Suelo	Cultivos	Observaciones
QJ-01	N 20°53'59.0" W 99°32'16.0" Altitud 2300 m	Manantial	Nopal silvestre	Nuevo San Joaquin Ruta Gruta la Esperanza
QJ-02	N 20°52'57.1" W 99°31'27.4" Altitud 2367 m	Mina la Fortuna Hg, cinabrio	Forestal silvestre	Abandonado municipio la Esperanza
QJ-03	N 20°54'37.8" W 99°33'08.1" Altitud 2425 m	Comunidad Crucero de Apartadero	Forestal silvestre	Las Ovejas comunidad
QJ-04	N 20°53'33.1" W 99°33'31.8" Altitud 2383 m	Parquet escuela espeología	Cultivo Manzana y Maíz	Los Pozos
QJ-05	N 20°54'26.5" W 99°33'54.7" Altitud 2435 m	Urbano	Silvestre	Santana camino de La Herradura
QJ-06	N 20°55'21.7" W 99°33'20.7" Altitud 2373 m	Urbana	Maíz nopal	La Guadalupana
QJ-07	N 20°55'27.3" W 99°34'04.8" Altitud 2379 m	Ruinas zona arqueológica	Silvestre	Las Ranas camino
QJ-08	N 20°55'16.7" W 99°35'27.7" Altitud 2474 m	Urbana forestal	Forestal silvestre	San Antonio carretera a San Cristobal
QJ-09	N 20°55'23.5" W 99°36'07.9" Altitud 2413 m	Urbana comunidad	Silvestre	San Cristobal ex mina la Maravilla
QJ-10	N 20°54'24.8" W 99°35'27.9" Altitud m	Urbana comunidad	Forestal	Los Hernández
QJ-11	N 20°53'42.4" W 99°36'09.1" Altitud 2482 m	Urbana Propiedad Mesa del Niño	Maguey	Mina cerrada Cadereita
QJ-12	N 20°53'22.9" W 99°34'59.1" Altitud 2360 m	Cultivo Maíz	Maíz parcela	Los Herrera carretera San Joaquin Vizarras

Tabla 4.4 Bitácora de trabajo de campo del municipio de Pinal de Amoles.

Muestra	Coordenadas: Latitud, Longitud y Altitud	Uso de Suelo	Cultivos	Observaciones
QP-01	N 21°07'38.7" W 99°38'53.7" Altitud 2429 m	La Tarjea Ex mina de Hg	Silvestre	Falda de la mina en La Quebradora
QP-02	N 21°07'44.6" W 99°37'02.4" Altitud 2328 m	Puerto del oro Ex mina de oro	Silvestre	Carretera Pinal – Marquesita
QP-03	N 21°06'58.7" W 99°36'15.4" Altitud 2264 m	Frente a escuela	Silvestre	Epasotito
QP-04	N 21°08'01.5" W 99°36'53.7" Altitud 2500 m	Puerto del Oro ex mina	Pino Silvestre	Carretera Pinal – Maguey
QP-05	N 21°07'57.4" W 99°37'22.7" Altitud 2301 m	Área poblada, área fundición	Silvestre	Pinal Cabecera
QP-06	N 21°08'01.3" W 99°37'43.1" Altitud 2347 m	Ojo de agua Cabecera Pinal	Silvestre	Mina cerrada de Hg
QP-07	N 21°09'43.7" W 99°36'25.8" Altitud 1994 m	El Perico	Maíz	Cultivo de maíz junto a la mina de Hg
QP-08	N 21°10'14.7" W 99°36'39.4" Altitud 2028 m	Antigua mina de Hg	Silvestre	Horno de destilación Hg nativo
QP-09	N 21°07'48.9" W 99°35'10.1" Altitud 1886 m	Tierra cultivo	Cultivo Maíz	San Vicente
QP-10	N 21°08'45.3" W 99°34'37.4" Altitud 1828 m	Por arriba de la escuela	Silvestre	Agua Fría
QP-11	N 21°08'50.6" W 99°37'43.8" Altitud 2303 m	Bosque	Pino Silvestre	Gachupina

Los mapas de la distribución real de los puntos geo-referenciados de cada municipio se encuentran en el capítulo correspondiente a los resultados.

Una vez tomadas las muestras (de por lo menos 500g) se procedió a transportarlas al laboratorio; las muestras se sometieron a un proceso de secado a temperatura ambiente y hasta que presentaran un máximo de humedad del 5%, y un posterior tamizaje con malla #40 para obtener un tamaño de partícula de 425 μ m, para así poder determinar la concentración total de mercurio en las mismas mediante el método descrito en el siguiente apartado.

4.2 DETERMINACIÓN DE MERCURIO TOTAL

La determinación del mercurio total se basa en el método propuesto por la EPA 3050B de digestiones ácidas para sedimentos, lodos y suelos¹⁷; a éste se le hicieron las modificaciones necesarias para poder desarrollar la técnica de acuerdo a las condiciones del laboratorio. De cada muestra se pesaron duplicados de aproximadamente 10g, a los cuales se añadieron 5mL de ácido nítrico concentrado y 15mL de ácido clorhídrico concentrado; esta mezcla se calentó a 85°C con agitación constante por 45 minutos. Después de este tiempo se procedió a filtrar dicha mezcla y se llevó a un volumen final de 50mL con agua desionizada para su posterior análisis por medio de Espectrometría de Absorción Atómica de Vapor Frío (EAAVF). Con fines de control de calidad, se consideró la elaboración de un blanco de reacción cada vez que se llevaba a cabo el proceso de digestión.

Adicionalmente, se realizó la cuantificación de plomo y arsénico, ya que, en base a los antecedentes, se sabe que el mineral de plata se encuentra asociado a dichos metales.

Una vez que se determinó la concentración total de mercurio en cada una de las muestras se procedió a seleccionar a aquéllas que rebasan el límite establecido en la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 (Tabla 4.2), para entonces llevar a cabo la especiación química secuencial y así determinar las especies de mercurio de mayor riesgo presentes en cada muestra.

4.3 ESPECIACIÓN QUÍMICA SECUENCIAL DEL MERCURIO

El método de especiación química que fue aplicado a las muestras de suelo contaminado del estado de Querétaro se basó en el trabajo desarrollado y probado, tanto para sales patrón de mercurio como para suelos contaminados, descrito en la tesis de licenciatura “Estudio de los métodos de especiación química secuencial de mercurio en jales de minería” (Olmos,2006)¹⁸.

El método de especiación química secuencial de mercurio consta de las etapas señaladas en la tabla 4.5.

Tabla 4.5 Etapas de la especiación química secuencial del mercurio.

Fracción	Especies a identificar	Seguimiento	
		Sobrenadante	Sedimento
F1	Solubles en agua	F1	F2
F2	Elemental (alamgamado)		F2, F3
F3	Intercambiables	F3	F4
F4	Fuertemente enlazadas	F4	F5
F5	Orgánicas	F5	F6
F6	Residual		F7
F7	Sulfuros	NA	NA

NA=No aplica

La etapa inicial es la extracción de especies solubles en agua (F1), en ésta se agregaron 40mL de agua desionizada a la muestra original y se agitó durante 120 minutos; posteriormente se centrifugó por 15 minutos y se recuperó el sobrenadante para llevarlo a un volumen final de 50mL, para así determinar la cantidad de mercurio extraída por EAAVF. El sedimento correspondiente se utiliza para la siguiente etapa.

La segunda etapa de la especiación tiene por objeto la determinación del mercurio elemental (F2) presente en las muestras; para ello, se procedió al calentamiento del sedimento de la etapa inicial, F1, en una mufla a una temperatura de 180°C para separar el mercurio metálico (amalgamado). Con el fin de evitar la contaminación de las muestras, se cubrieron con un vidrio de reloj que contenía carbón activado para adsorber el mercurio liberado. Para

esta etapa fue necesario utilizar seis muestras (dos triplicados), de las cuales, la mitad se sometió a una digestión ácida como la descrita para la determinación de mercurio total; la otra mitad se guardó para la etapa posterior (F3). El valor del mercurio elemental se calcula por diferencia de la cantidad de mercurio extraída en la digestión ácida (mercurio total) y la cantidad de mercurio extraída en esta última etapa, pues es la cantidad de mercurio que permanece en la muestra después de la volatilización del mercurio metálico. La cantidad extraída de mercurio se determinó también por EAAVF.

Para la etapa de extracción de especies intercambiables (F3) se utilizó el triplicado mencionado en la etapa anterior que no fue sometido a digestión ácida. A éste se le agregaron 40mL de una disolución de cloruro de magnesio 0.5N y se agitó, a temperatura ambiente, por 120 minutos. Después del tiempo transcurrido, la muestra se centrifugó, el sobrenadante se aforó a un volumen final de 50mL y se utilizó para la determinación de la cantidad de mercurio extraído por EAAVF y el sedimento se utilizó en la siguiente etapa (F4).

La etapa F4 se realizó para la determinación de las especies fuertemente enlazadas; en ésta, al sedimento resultante de la etapa F3 se le añadieron 40mL de ácido clorhídrico 0.5N y se agitó, a temperatura ambiente, durante 120 minutos. Se procedió entonces a centrifugar la muestra, utilizando el sobrenadante, previo aforo a 50mL, para la cuantificación del mercurio extraído por EAAVF y recuperando el sedimento para la etapa posterior (F5).

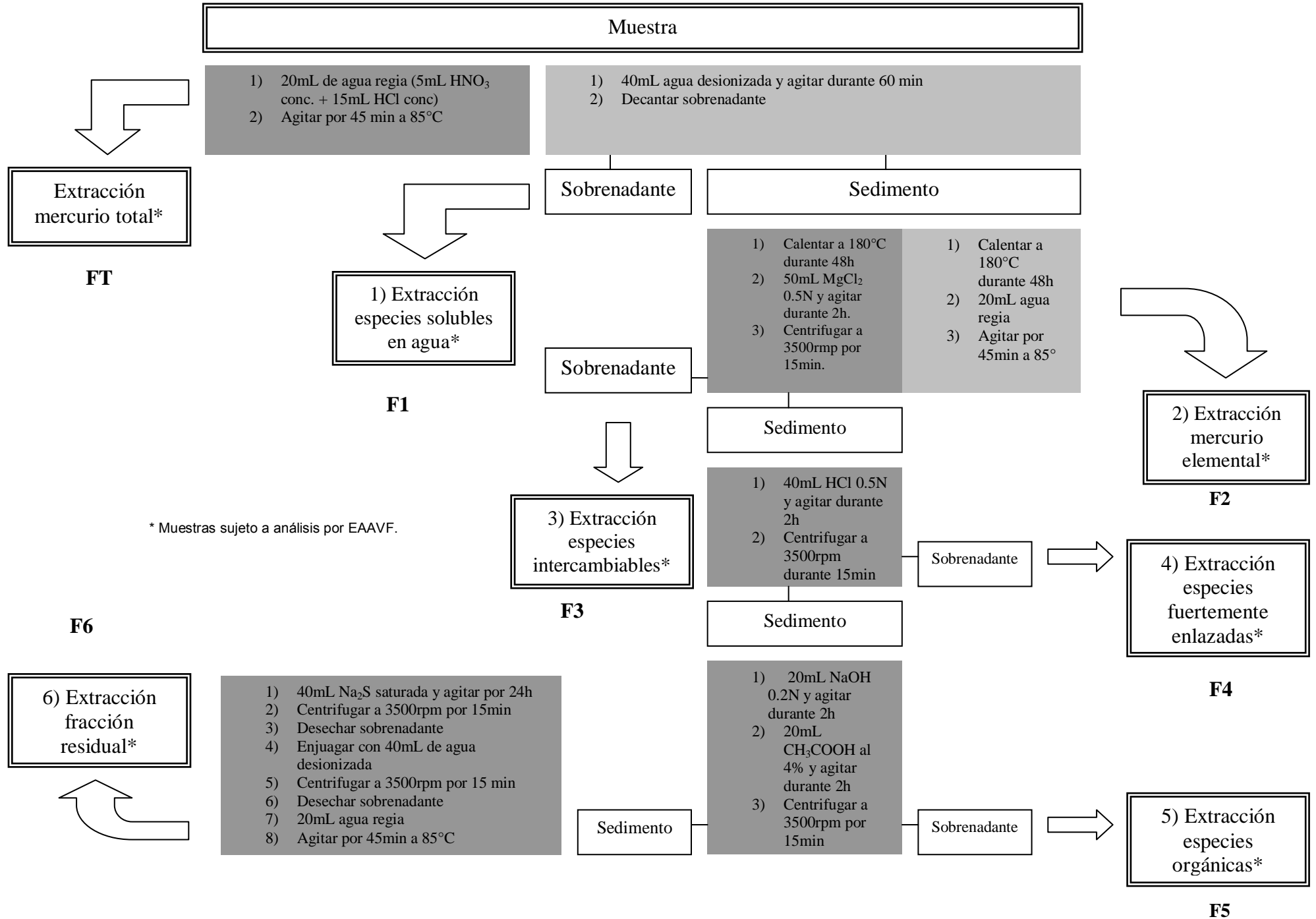
En la etapa F5 se llevó a cabo la extracción del mercurio orgánico presente en la muestra; para ello, se agregaron 20mL de hidróxido de sodio 0.2N al sedimento resultante de la etapa F4 y se agitó durante 120 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se agregaron 20mL de una solución de ácido acético al 4% (v/v); esta última mezcla se agitó también a temperatura ambiente por otros 120 minutos. Al igual que en las etapas anteriores, después de transcurrido el tiempo de reacción, la mezcla se centrifugó para separar el sobrenadante del sedimento, éste último se reservó para la última etapa de la especiación secuencial, mientras que el sobrenadante, después de llevarlo a un volumen final de 50mL, fue sujeto a análisis por EAAVF.

La etapa F6, y última de la especiación, tiene por objeto la extracción de la fracción de sulfuros presentes en la muestra; al sedimento de la etapa F5 se le agregaron 40mL de una disolución saturada de sulfuro de sodio, esta mezcla se agitó, a temperatura ambiente, durante 24 horas; después de dicho tiempo, se centrifugó y el sobrenadante se envió a tratamiento de residuos. Se añadieron, después, 40mL de agua desionizada y se repitió la centrifugación de las muestras; esto se realizó para efectos de enjuague de la muestra, por lo que sobrenadante también fue enviado a residuos para su tratamiento adecuado. El sedimento resultante se sometió a una digestión ácida como la descrita tanto en la etapa de determinación del mercurio total, como en la de mercurio elemental, después de la cual se procedió también a una filtración y al aforo de la disolución resultante a un volumen de 50mL. Se procedió entonces al análisis por EAAVF, del cual se determina la cantidad de mercurio residual posterior al proceso de extracción de sulfuros; la cantidad de éstos últimos no pueden ser directamente determinados por EAAVF por las características que presenta la solución resultante de dicho proceso. Por esto último, la cantidad de mercurio correspondiente a la fracción de sulfuros se calcula por diferencia de la suma de las fracciones F1, F2, F3, F4, F5 y F6, y la cantidad de mercurio total determinada inicialmente.

En la figura 4.3 se muestra el diagrama de flujo que resume el proceso de determinación del mercurio total y el de especiación secuencial química del mercurio realizado en este estudio.

Los resultados de la especiación se presentan en el capítulo correspondiente a los resultados de este estudio.

Figura 4.3 Procedimiento de la Especiación Química Secuencial del Mercurio



4.3 ENSAYO DE BIODISPONIBILIDAD *IN VITRO*

Una vez realizada la especiación e identificadas las principales sales presentes en los suelos bajo estudio, se procedió a la aplicación del estudio de biodisponibilidad *in vitro*.

Para efectos de nuestra evaluación, las muestras seleccionadas para esta prueba fueron aquellas, de las sometidas a especiación, que presentaron mayor concentración de mercurio total para cada municipio, es decir, la muestra QP-08 para Pinal de Amoles con una concentración de 1198.71 ppm y la muestra QJ-11 para San Joaquín con una concentración de 508.83 ppm.

La prueba PBET descrita en la literatura ¹⁴ fue modificada para que pudiera ser realizada con el equipo utilizado en el método MGA 0291 de disolución de fármacos en formas farmacéuticas sólidas especificado por la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM, 2004)²³. Este método tiene por objetivo el monitoreo de la liberación de un principio activo en una forma farmacéutica con respecto al tiempo; por lo tanto, después de cierto periodo, se puede saber la cantidad de sustancia que ha sido liberada desde una matriz específica hacia el medio. Se empleó el “aparato 2” o “de paletas”, en el que se debe depositar la muestra en el fondo del vaso antes de iniciar la rotación de la paleta; el aparato 2 consta de un baño de agua y de seis unidades de prueba, cada una de las cuales constituida por un vaso (disolutor) cilíndrico con tapa, un eje transmisor, un regulador de velocidad de rotación y una hélice. En la figura 4.4 se muestra un esquema sencillo del aparato de paletas.

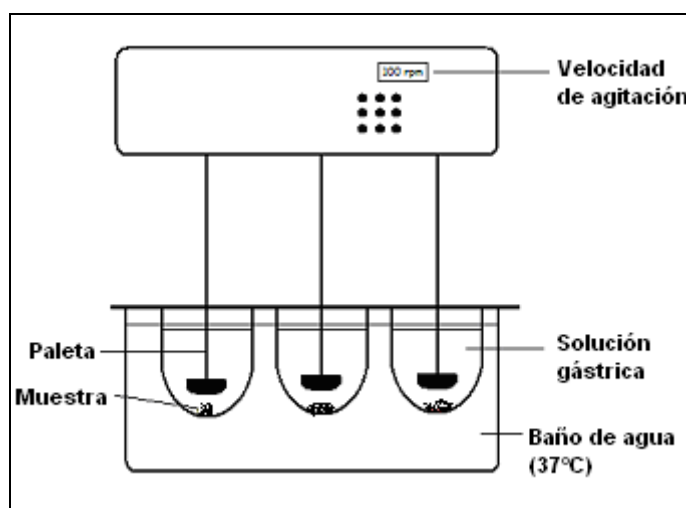
Las principales modificaciones a la prueba PBET descrita por Ruby, *et al* (1996)²⁰. para el ensayo de biodisponibilidad de este trabajo corresponden al equipo utilizado y al sistema de agitación del mismo. En la tabla 4.6 se especifican las dichas diferencias.

Tabla 4.6 Modificaciones implementadas a la prueba PBET para el ensayo de biodisponibilidad *in vitro*.

	PBET Ruby, <i>et al</i> ,(1996) ²⁰	PBET Modificada
Equipo	Embudos de separación	Disolutor
Sistema de agitación	Inyección de Argón	Revolución de paletas

En cada vaso disolutor se colocaron 400mL de la solución gástrica; los vasos disolutores se sumergieron parcialmente en el baño de agua a 37°C, como se indica en la FEUM²³ y se esperó a que la solución gástrica de cada vaso alcanzara dicha temperatura. Se añadieron entonces las muestras de 4g de suelo en el vaso correspondiente y se dejó reposar 10 minutos después de verificar que el pH fuera el indicado (pH 2-4), después de lo cual se comenzó con la agitación a una velocidad de 100 rpm. Se tomaron muestras de 20mL cada una a los 10, 40 y 60 minutos a partir del inicio de la agitación (incubación).

Figura 4.4 Esquema del aparato de paletas.



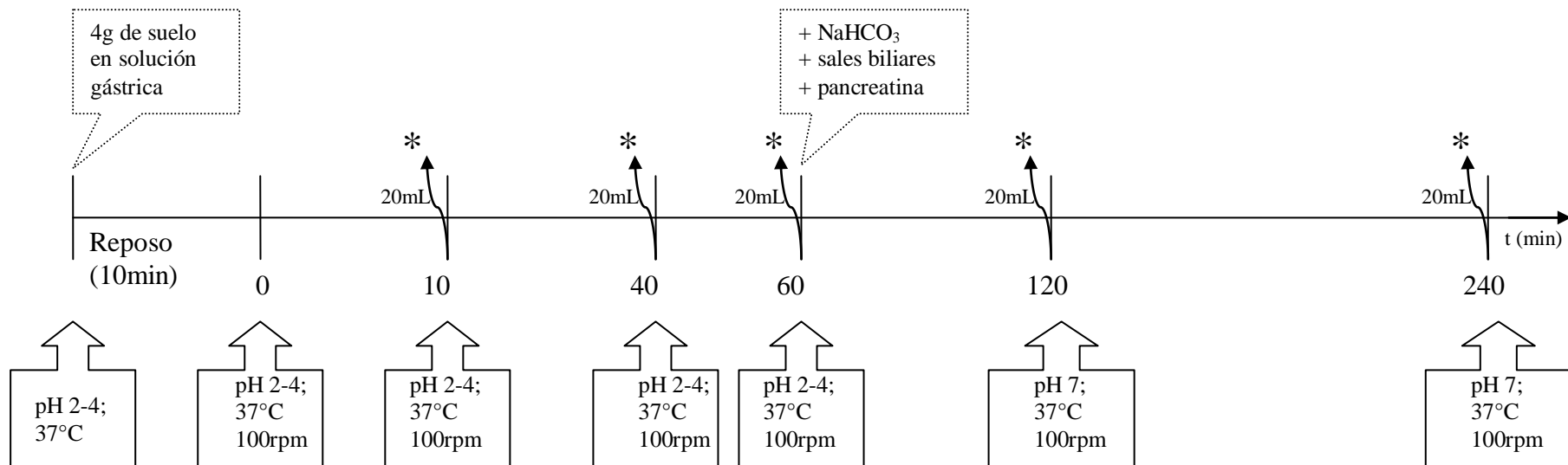
A los 60 minutos de la corrida, y después de haber tomado la muestra correspondiente, la solución se llevó a pH 7 mediante la adición de bicarbonato de sodio; además, se añadieron 700mg de sales biliares y 200mg de pancreatina a todos y cada uno de los vasos disolutores. Se tomaron muestras de 20mL cada una a los 120 y 240 minutos a partir del inicio de la incubación.

Todas las muestras derivadas de la prueba fueron centrifugadas a 3500rpm durante 15 minutos, filtradas y llevadas a un volumen final de 25mL, ya fuera con solución gástrica o con agua desionizada según el pH correspondiente, para su posterior análisis por EAAVF.

En la figura 4.5 se muestra el esquema que resume el proceso del estudio de biodisponibilidad *in vitro* realizado en este estudio:

Figura 4.5 Procedimiento del ensayo de biodisponibilidad *in vitro*

* Muestras sujeto a análisis por EAAVF
previo a foro a 25mL.



NOTA: Después de cada toma de muestra (*) se añaden 20mL de solución gástrica o agua desionizada para mantener el volumen inicial.

CAPÍTULO 5

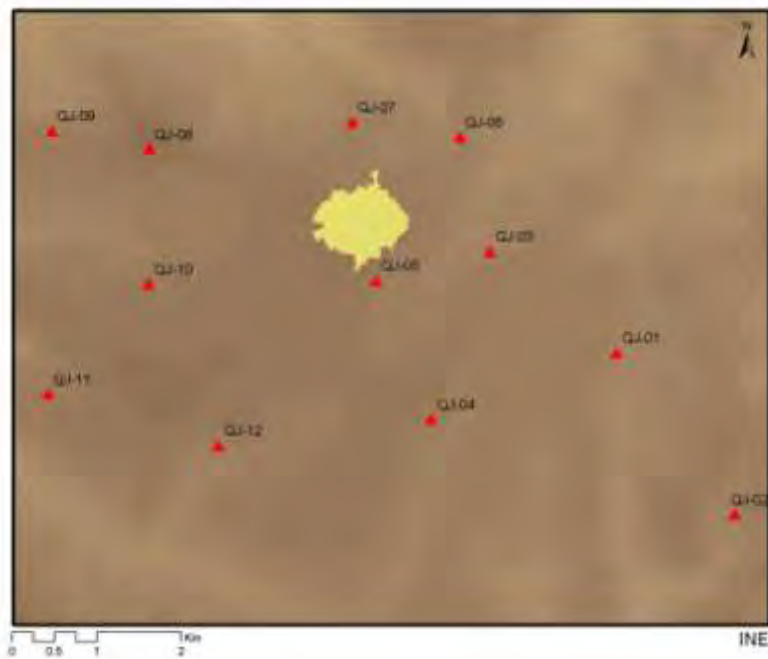
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 MUESTREO DE LOS SUELOS CONTAMINADOS

Tal como se mencionó en el capítulo anterior, el muestreo realizado fue de tipo exploratorio y a una profundidad de 30cm, es decir, superficial. Los puntos de muestreo fueron elegidos de acuerdo a la descripción de un muestreo sistemático, puntualizado en la Norma Mexicana NMX-AA-132-SCFI-2006²¹; sin embargo, al momento del trabajo de campo, los puntos de muestreo propuestos fueron modificados. Lo anterior sucede con frecuencia en la práctica, pues, debido a la rigurosidad geométrica del sistema de muestreo seleccionado, los puntos que se pueden llegar a elegir esquemáticamente pueden mostrar algún impedimento cuando el muestreo es llevado a cabo, ya sea por falta de accesibilidad a zonas privadas o geográficamente accidentadas (barrancas, desfiladeros, etc.). Algunas las razones de modificación de los puntos de muestreo propuestos pueden atribuirse a la naturaleza del material presente en el sitio, a problemas de accesibilidad al mismo, a la dificultad de la toma de muestra o, inclusive, a las condiciones climáticas.

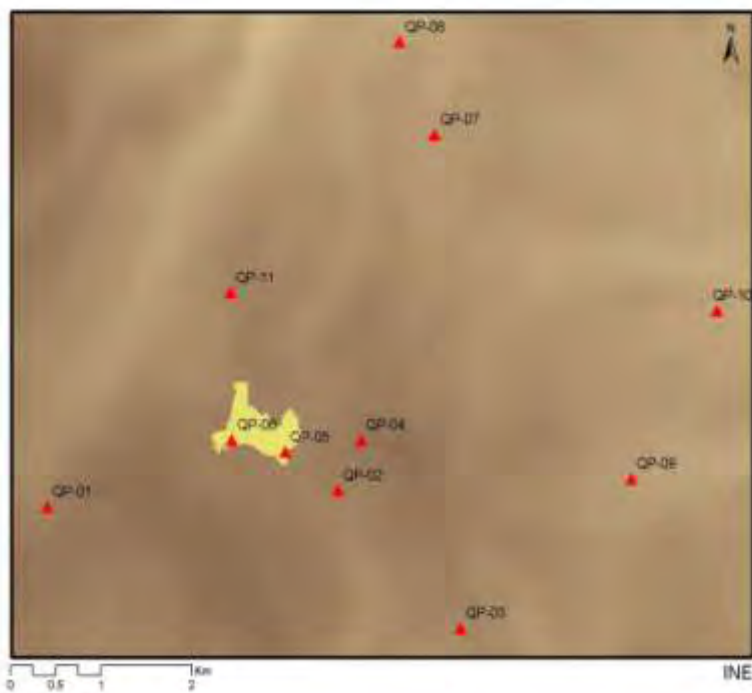
En las figuras 5.1 y 5.2 se observan los mapas de la distribución de los puntos de muestreo ya geo-referenciados de acuerdo a los datos de latitud y longitud registrados en las bitácoras de trabajo de campo, mostrando las posiciones reales de donde fue tomada cada muestra de los municipios de San Joaquín y Pinal de Amoles, respectivamente.

Figura 5.1 Puntos de muestreo real del municipio de San Joaquín, Querétaro.



Elaboración propia. La figura en amarillo representa el punto más alto de la zona (curvas de nivel).

Figura 5.2 Puntos de muestreo real del municipio de Pinal de Amoles, Querétaro.



Elaboración propia. La figura en amarillo representa el punto más alto de la zona (curvas de nivel).

5.2 DETERMINACIÓN DE MERCURIO TOTAL

Una vez tomadas las muestras y procesadas de acuerdo a lo descrito en la metodología, se procedió a realizar la cuantificación del mercurio total en cada una de ellas.

En las tablas 5.1 y 5.2 se muestran los resultados de la determinación de la concentración tanto de mercurio como de plomo y plata total de las muestras obtenidas de la zona de estudio.

Tabla 5.1 Concentración total de Hg, Pb y Ag (mg/kg) en las muestras del municipio de San Joaquín (QJ) en el Estado de Querétaro.

Muestra	Latitud, longitud y altitud.	Hg (mg/kg)	Pb (mg/kg)	Ag (mg/kg)
QJ-01	N 20°53'59.0" O 99°32'16.0" A 2300 m	4.08	20.8	0.91
QJ-02	N 20°52'57.1" O 99°31'27.4" A 2367 m	8.21	26.25	1.83
QJ-03	N 20°54'37.8" O 99°33'08.1" A 2425 m	36.81	35.34	0.58
QJ-04	N 20°53'33.1" O 99°33'31.8" A 2383 m	1.54	33.46	1.08
QJ-05	N 20°54'26.5" O 99°33'54.7" A 2435 m	11.67	21.97	0.83
QJ-06	N 20°55'21.7" O 99°33'20.7" A 2373 m	32.45	51.41	1.01
QJ-07	N 20°55'27.30" O 99°34'04.8" A 2379 m	2.18	23.18	0.59
QJ-08	N 20°55'16.7" O 99°35'27.7" A 2474 m	1.17	805.38	8.98
QJ-09	N 20°55'23.5" O 99°36'07.9" A 2413 m	6.8	217.15	1.97
QJ-10	N 20°54'24.8" O 99°35'27.9" A m	14.3	30.7	0.76
QJ-11	N 20°53'42.4" O 99°36'09.1" A 2482 m	508.83	130.85	1.54
QJ-12	N 20°53'22.9" O 99°34'59.1" A 2360 m	7.82	33.49	0.72

Tabla 5.2 Concentración total de Hg, Pb y Ag (mg/kg) en las muestras del municipio de Pinal de Amoles (QP) en el Estado de Querétaro.

Muestra	Latitud, longitud y altitud.	Hg (mg/kg)	Pb (mg/kg)	Ag (mg/kg)
QP-01	N 21°07'38.7" O 99°38'53.7" A 2429 m	261.5	52.06	4.16
QP-02	N 21°07'44.6" O 99°37'02.4" A 2328 m	0.43	113.64	22.99
QP-03	N 21°06'58.7" O 99°36'15.4" A 2264 m	1.22	81.32	1.95
QP-04	N 21°08'01.5" O 99°36'53.7" A 2500 m	3.7	40.76	4.39
QP-05	N 21°07'57.4" O 99°37'22.7" A 2301 m	1.95	949.04	65.38
QP-06	N 21°08'01.3" O 99°37'43.1" A 2347 m	1.58	57.67	2.81
QP-07	N 21°09'43.7" O 99°36'25.8" A 1994 m	436.2	54.54	2.19
QP-08	N 21°10'14.7" O 99°36'39.4" A 2028 m	1198.71	72.75	2.63
QP-09	N 21°07'48.9" O 99°35'10.1" A 1886 m	0.74	247.82	3.75
QP-10	N 21°08'45.3" O 99°34'37.4" A 1828 m	1.69	29.67	2.13
QP-11	N 21°08'50.6" O 99°37'43.8" A 2303 m	0.48	65.57	2.5

Como se puede observar, se encontró que seis de las veintitrés muestras sobrepasan los niveles de las concentraciones de referencia total de mercurio indicados en la Norma Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004²² (23 mg/kg); dichas muestras, tres del municipio de San Joaquín y tres del municipio de Pinal de Amoles, corresponden a las claves QJ-03, QJ-06 y QJ-11, y QP-01, QP-07 y QP-08, respectivamente.

Refiriéndonos a las tablas 4.3 y 4.4, que muestran las bitácoras de trabajo de campo de los municipios de San Joaquín y Pinal de Amoles, respectivamente, se puede ver que estos puntos de muestreo se encuentran en sitios de actividad minera; así, se puede aseverar que las altas concentraciones

de mercurio encontradas en sendos puntos de muestreo se deben a la actividad antropogénica. Ésto exceptuando los puntos QJ-03 y QJ-06, los cuales corresponden a zonas habitacionales; sin embargo, la cantidad de mercurio encontrada en esos puntos sobrepasan los límites establecidos por diferencias significativamente menores a las de los otros cuatro puntos.

Estas muestras fueron seleccionadas para ser sometidas al proceso de especiación química secuencial, dado que no sólo nos interesaba saber la concentración del mercurio total, sino lo más importante es identificar las especies presentes y, por lo tanto, establecer el riesgo real presente en los sitios bajo estudio.

5.3 ESPECIACIÓN QUÍMICA SECUENCIAL

Tomando como base los resultados obtenidos de la concentración total de mercurio, las muestras que rebasaron el límite establecido para suelos de uso agrícola o residencial fueron sometidas a la extracción de las diferentes especies de mercurio mediante diversos medios de disolución.

Las tablas 5.3, 5.4 y 5.5 contienen los datos obtenidos de la especiación química secuencial del mercurio así como las proporciones relativas de las mismas en cuanto al mercurio total presente en las muestras. Se observa que las especies predominantes en las muestras analizadas corresponden a la elemental (en forma de amalgama), sulfuros y residual.

Tabla 5.3 Especiación química secuencial de mercurio en las muestras de los municipios de San Joaquín (QJ) y Pinal de Amoles (QP) del Estado de Querétaro.

Muestra *	Especies solubles en agua (ppm)	Hg ⁰ (Elemental / amalgamado) (ppm)	Especies Intercambiables (ppm)	Especies fuertemente Enlazadas (ppm)	Especies orgánicas (ppm)	Residual (ppm)	Sulfuros (ppm)	Total (ppm)l
QJ-03 DE	0.0167 0.0057	18.075 3.7264	N.D.	0.4133 0.0208	N.D.	1.6667 0.2926	13.9483	34.12 1.8526
QJ-06 DE	N.D.	15.7933 1.7722	N.D.	0.0433 0.0153	N.D.	3.1367 0.462	13.48	32.4533 2.9403
QJ-11 DE	0.0233 0.0058	396.05 5.1336	0.1133 0.0321	4.2767 0.3557	0.9533 0.1201	58.94 3.3093	54.0983	514.455 2.9911
QP-01 DE	0.0055 0	196.635 6.3003	1.7333 0.3798	7.0667 0.925	0.0643 0.0301	13.17 2.6021	19.2952	237.97 27.054
QP-07 DE	0.1633 0.0404	402.78 19.7553	6.925 2.3829	2.88 0.1980	2.445 0.2333	22.815 2.2274	4.6067	442.615 21.093
QP-08 DE	0.0233 0.0058	997.92 0.3535	0.2267 0.0115	2.6633 0.3971	0.11 0.0436	98.05 7.5377	105.317	1204.31 6.6185

N.D. = No detectable

* Promedio de triplicados.

Tabla 5.4 Proporción relativa (%) de las especies de mercurio en cuanto al mercurio total de cada muestra del municipio de San Joaquín.

Muestra	QJ-03		QJ-06		QJ-11	
	Hg (ppm)	Hg /Hg _T (%)	Hg (ppm)	Hg /Hg _T (%)	Hg (ppm)	Hg /Hg _T (%)
Sol. Agua	0.0167	0.05	0	0	0.0233	0.004
Elemental	18.075	52.97	15.7933	48.66	396.05	76.98
Intercambiable	0	0	0	0	0.1133	0.022
F. Enlazado	0.4133	1.21	0.0433	0.13	4.2767	0.83
Orgánico	0	0	0	0	0.9533	0.19
Residual	1.6667	4.88	3.1367	9.67	58.94	11.46
Sulfuros	13.9483	40.88	13.48	41.54	54.0983	10.52
Total	34.12	100	32.4533	100	514.455	100

Tabla 5.5 Proporción relativa (%) de las especies de mercurio en cuanto al mercurio total de cada muestra del municipio de Pinal de Amoles.

Muestra	QP-01		QP-07		QP-08	
	Hg (ppm)	Hg /Hg _T (%)	Hg (ppm)	Hg /Hg _T (%)	Hg (ppm)	Hg /Hg _T (%)
Sol. Agua	0.0055	0.002	0.1633	0.04	0.0233	0.002
Elemental	196.64	82.63	402.78	91	997.92	82.86
Intercambiable	1.7333	0.73	6.925	1.56	0.2267	0.02
F. Enlazado	7.0667	2.97	2.88	0.65	2.6633	0.22
Orgánico	0.0643	0.03	2.445	0.55	0.11	0.01
Residual	13.17	5.53	22.815	5.15	98.05	8.14
Sulfuros	19.295	8.12	4.6067	1.04	105.32	8.75
Total	237.97	100	442.615	100	1204.3	100

A continuación se muestran tanto los gráficos correspondientes a los datos de la concentración, en partes por millón, de las especies de mercurio presentes como los que permiten visualizar la proporción relativa de las mismas, en cuanto al mercurio total, en cada una de las muestras sujetas a especiación:

Gráfico 5.1 Concentración de mercurio total y de sus especies presentes en la muestra QJ-03.

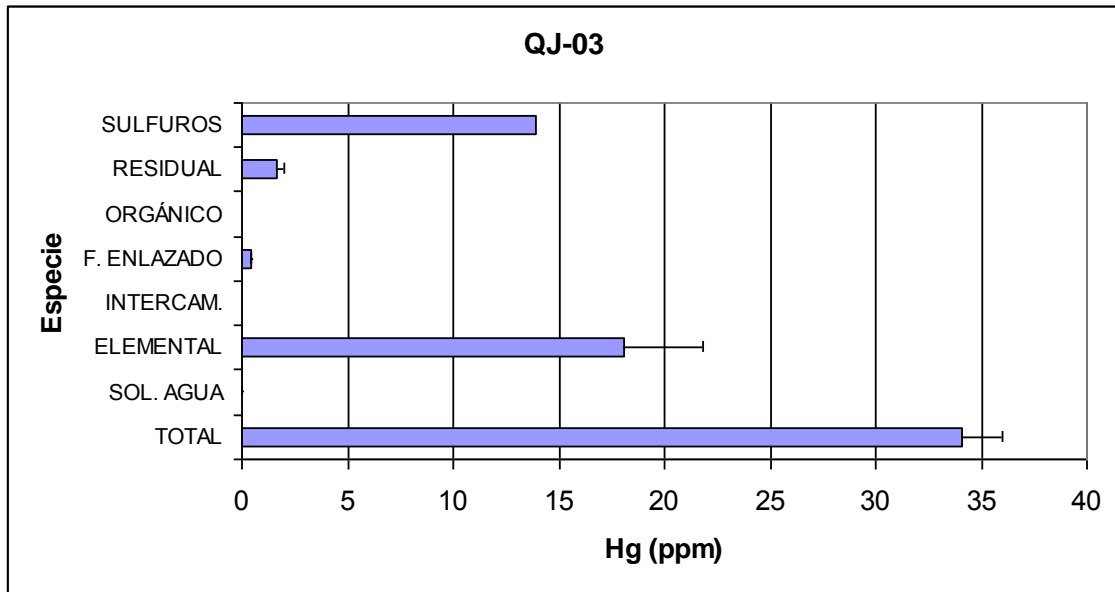


Gráfico 5.2 Proporción relativa de las especies de mercurio presentes en la muestra QJ-03.

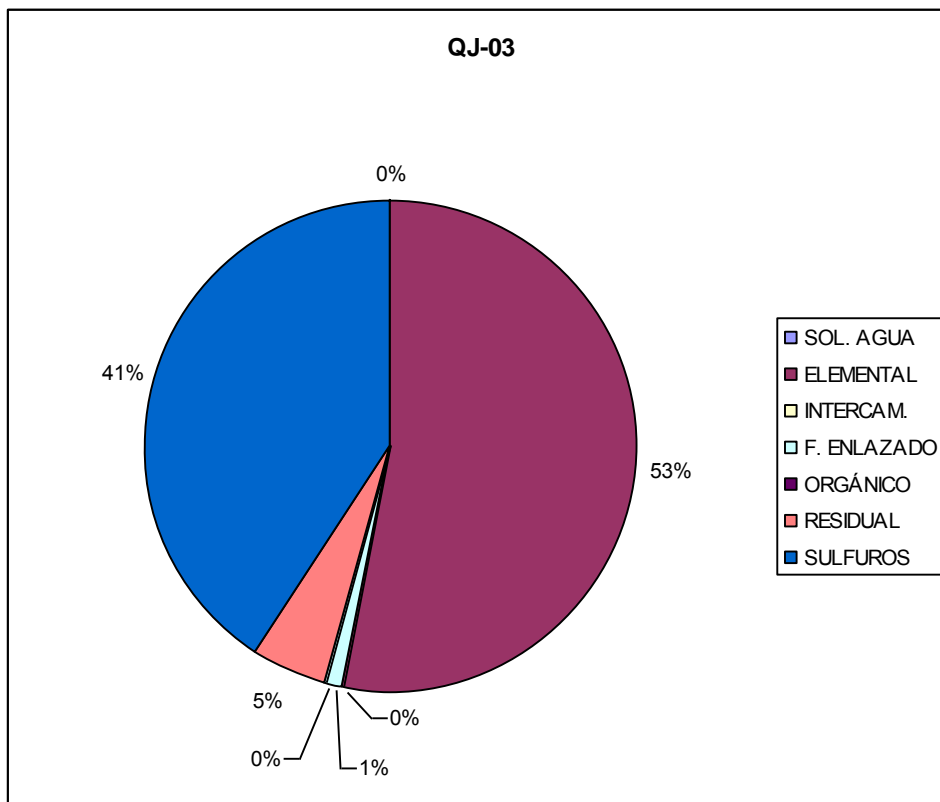


Gráfico 5.3 Concentración de mercurio total y de sus especies presentes en la muestra QJ-06.

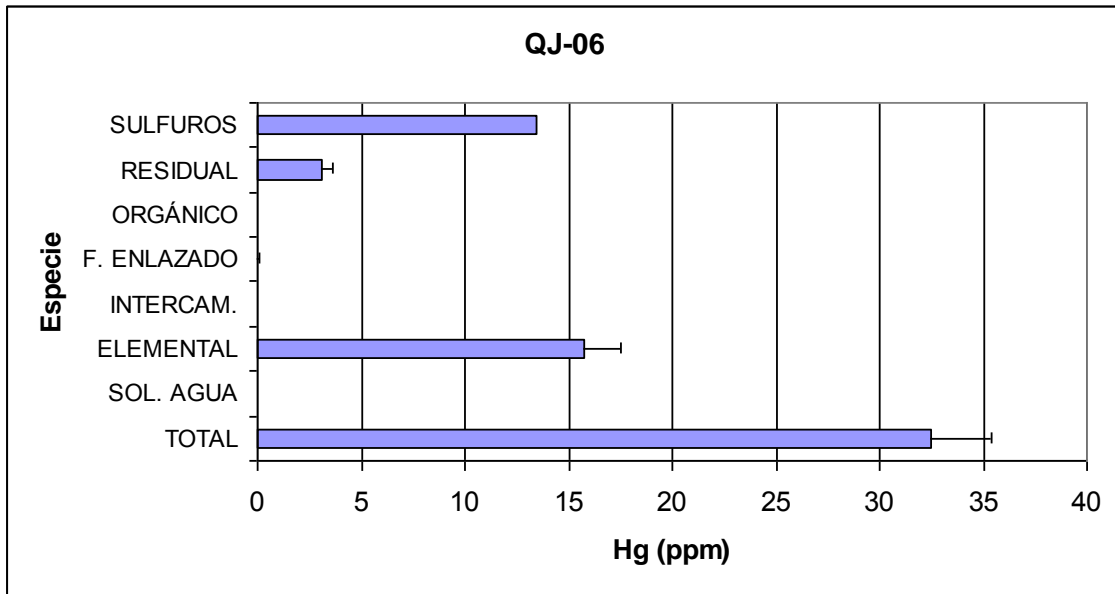


Gráfico 5.4 Proporción relativa de las especies de mercurio presentes en la muestra QJ-06.

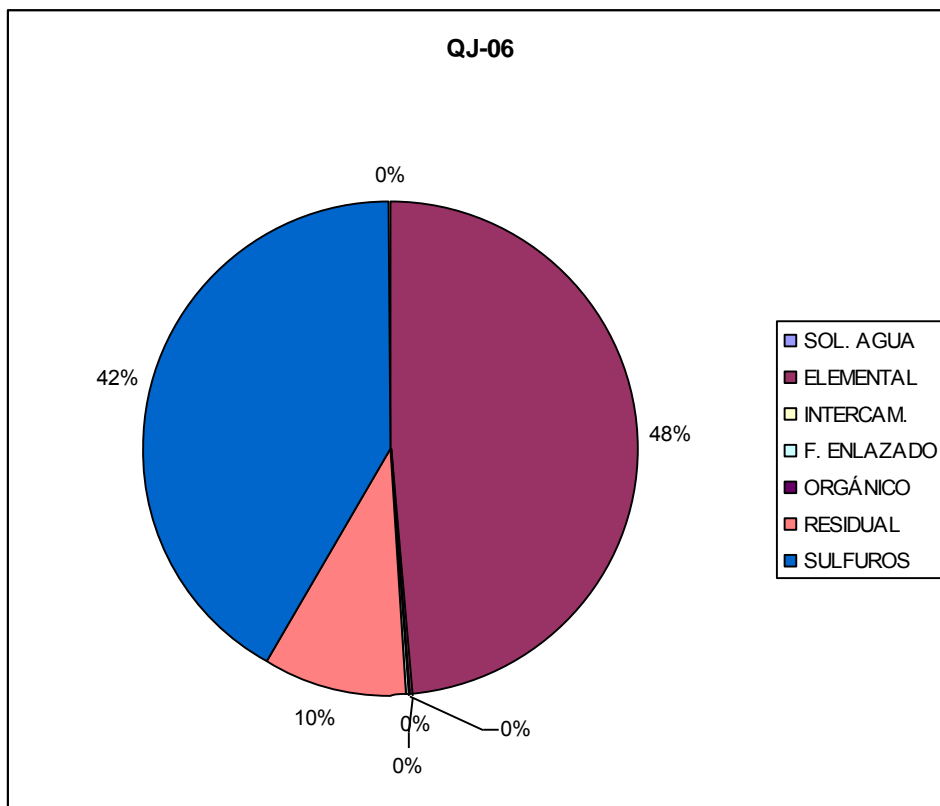


Gráfico 5.5 Concentración de mercurio total y de sus especies presentes en la muestra QJ-11.

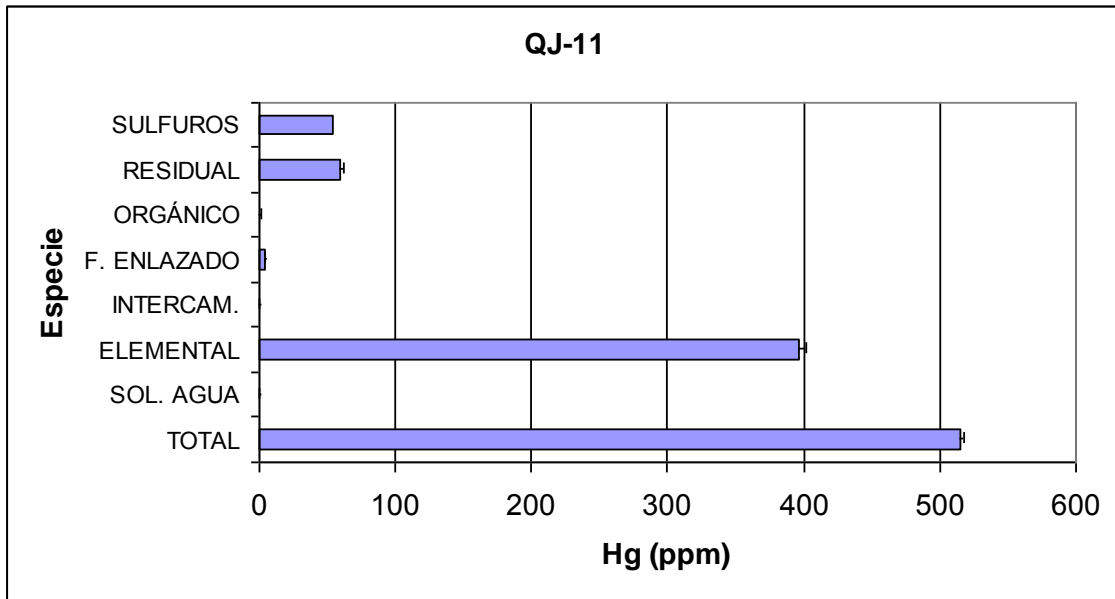


Gráfico 5.6 Proporción relativa de las especies de mercurio presentes en la muestra QJ-11.

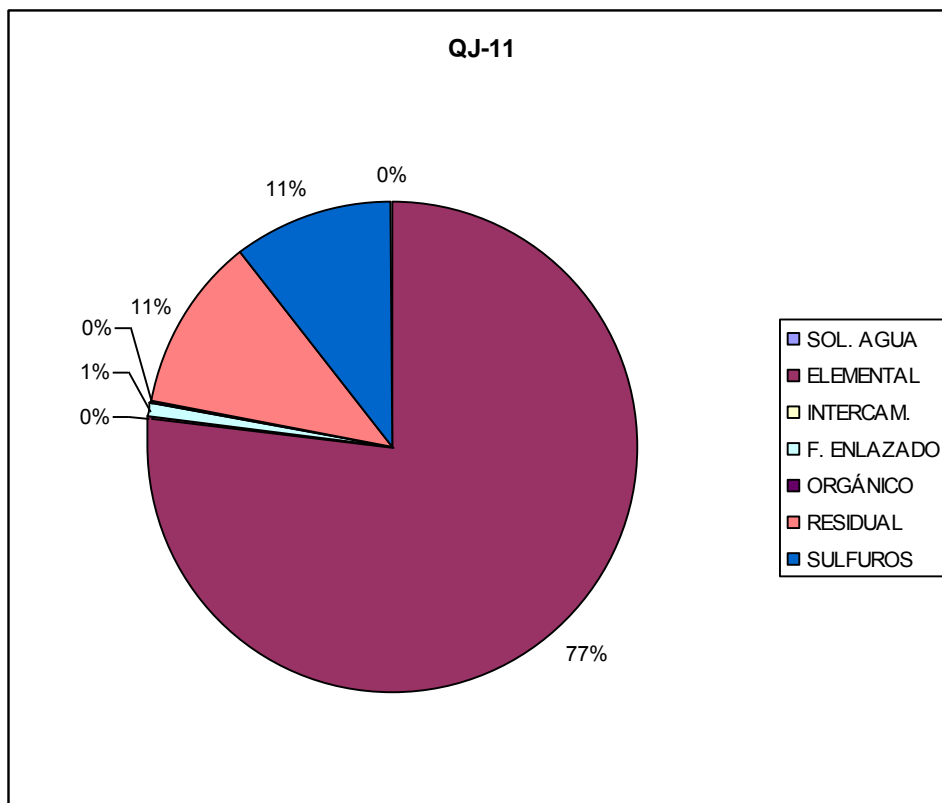


Gráfico 5.7 Concentración de mercurio total y de sus especies presentes en la muestra QP-01.

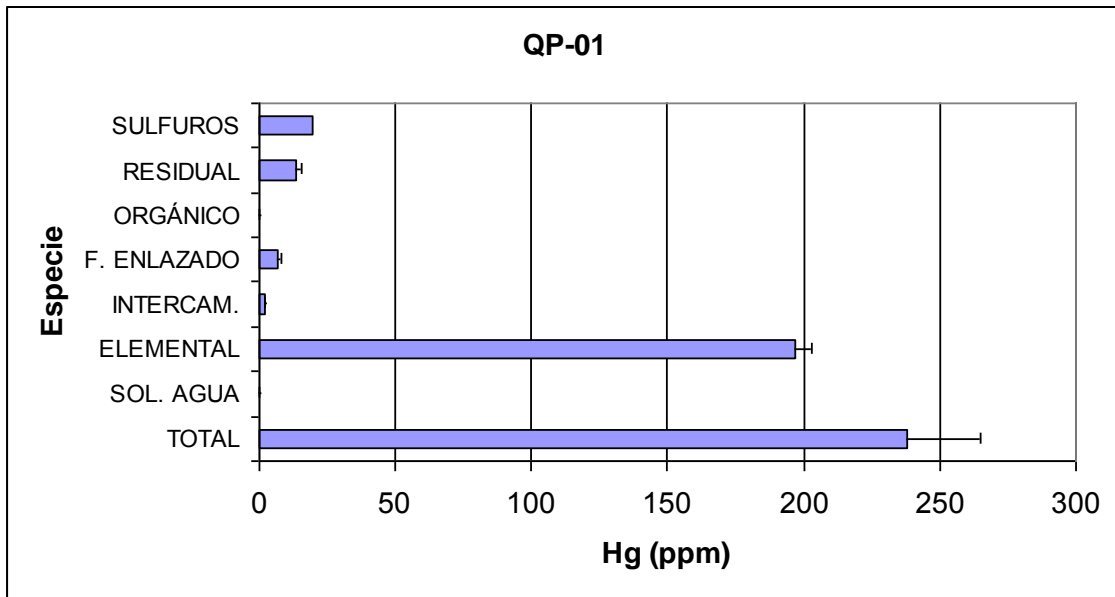


Gráfico 5.8 Proporción relativa de las especies de mercurio presentes en la muestra QP-01.

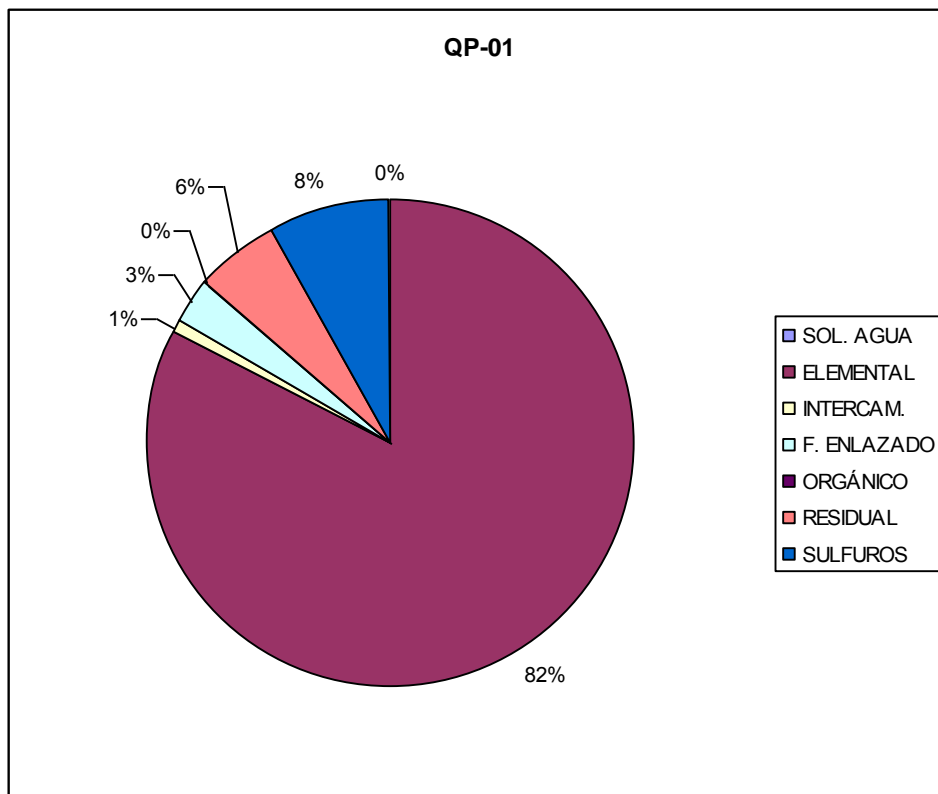


Gráfico 5.9 Concentración de mercurio total y de sus especies presentes en la muestra QP-07.

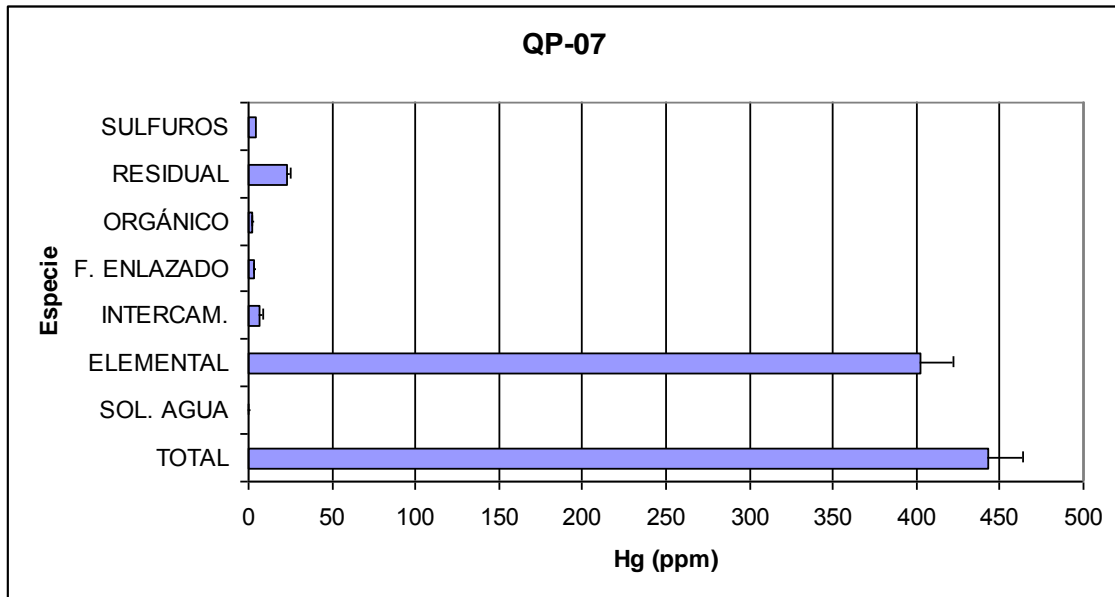


Gráfico 5.10 Proporción relativa de las especies de mercurio presentes en la muestra QP-07.

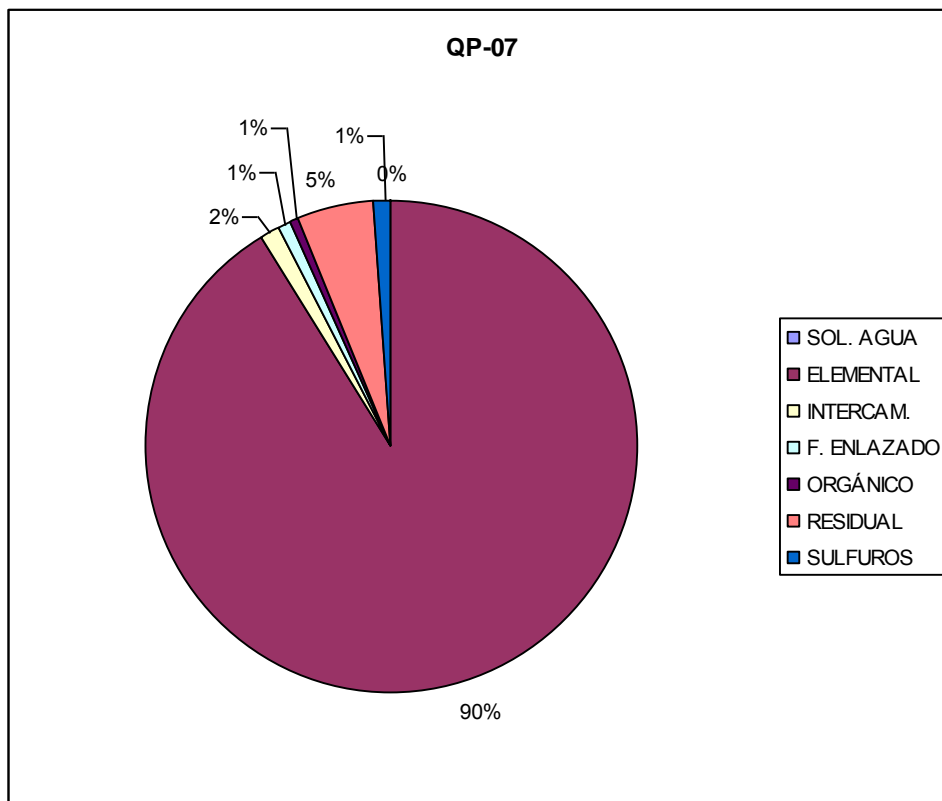


Gráfico 5.11 Concentración de mercurio total y de sus especies presentes en la muestra QP-08.

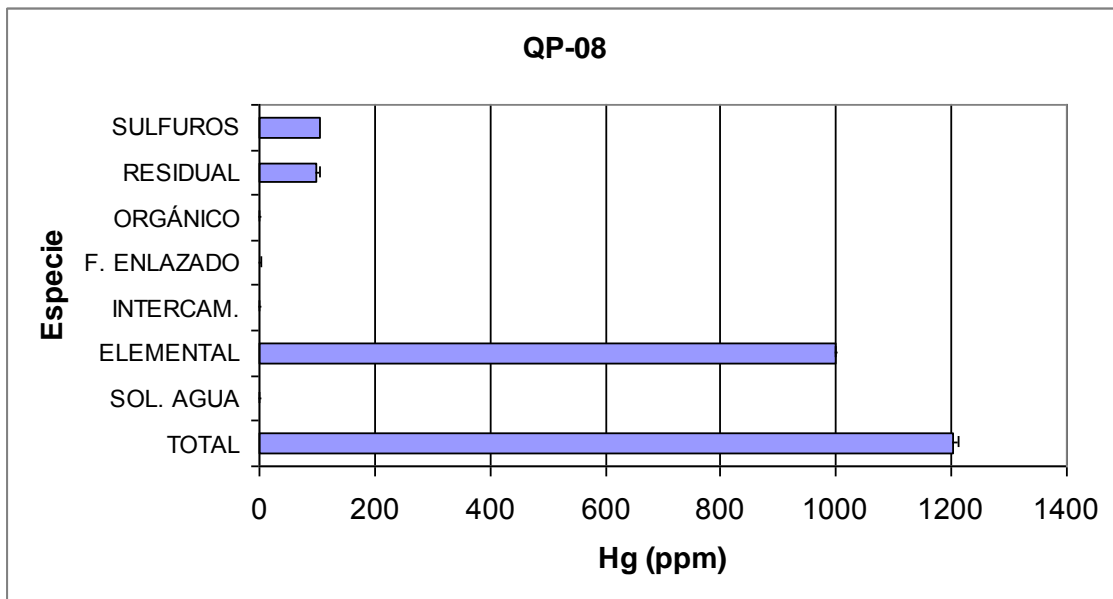
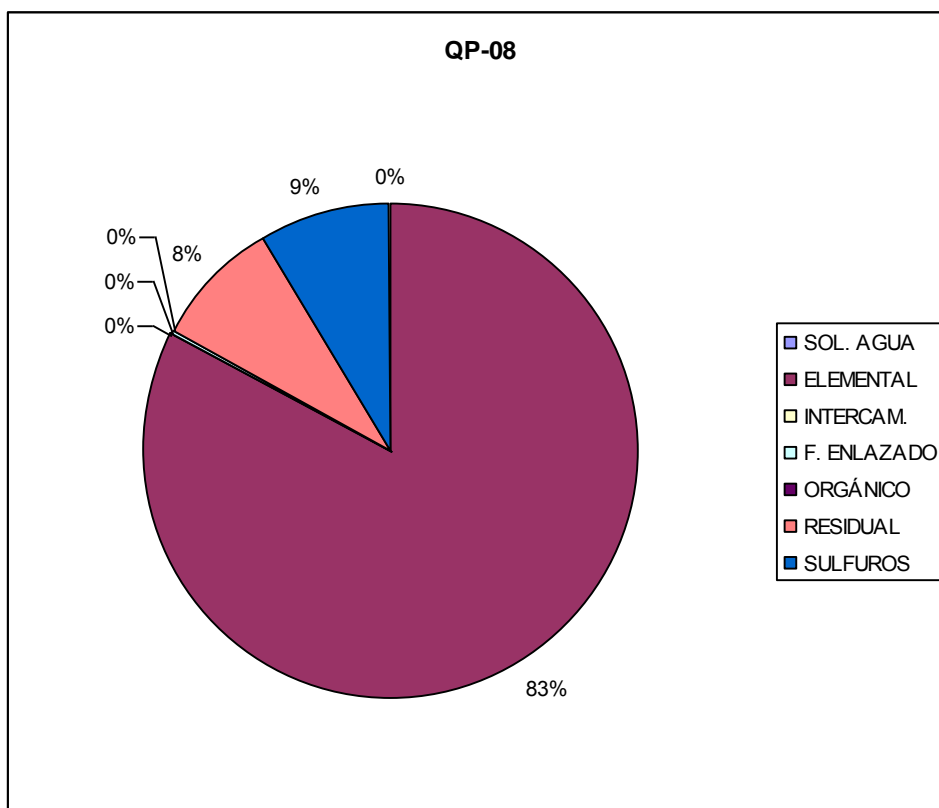


Gráfico 5.12 Proporción relativa de las especies de mercurio presentes en la muestra QP-08.



Las gráficas anteriores nos permiten advertir que la especie con mayor predominancia en las muestras analizadas corresponde al mercurio elemental (en forma de amalgama), con proporciones que van desde el 48.66% hasta el 91% del porcentaje del mercurio total en las muestras sometidas a especiación; de esta especie se encontraron concentraciones desde 15.79 ppm hasta 997.92 ppm. Desde el punto de vista de estabilidad, la forma amalgamada de mercurio presenta un bajo riesgo de ser movilizada del suelo a otro compartimiento ambiental ya que esta especie no se solubiliza ni se volatiliza. A pesar de la estabilidad que esta especie presenta, las concentraciones en que se encuentra en las muestras son demasiado altas, inclusive mayores que las concentraciones de referencia de mercurio total establecidas en la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004; por esto, se requiere de más estudios que permitan la evaluación del riesgo que esta especie puede representar para la población

El sulfuro de mercurio, que es la segunda especie que se presenta en mayor proporción, se encontró en porcentajes relativos desde el 1.04% hasta el 41.54% del mercurio total, con concentraciones que van desde 4.61 ppm hasta 105.32 ppm. Se sabe que esta especie se presenta en forma natural como cinabrio (HgS), la cual es la especie más estable del mercurio, siendo nula su movilidad del suelo a otro compartimiento ambiental. Sin embargo, la posibilidad de que esta especie puede llegar a ser metilada (al igual que todas las demás), nos advierte que ésta representa un peligro potencial para la salud humana. Además de la metilación, el sulfuro de mercurio puede sufrir, también, una oxidación, con lo que de ella resultarían formas químicas solubles en agua como lo son los sulfatos y sulfitos de mercurio.

En cuanto al mercurio en forma residual se refiere, se observa que se presenta, también, en porcentajes significativos con respecto al mercurio total, que van desde el 4.88% hasta el 11.46%. Las concentraciones de esta especie en las muestras sometidas al proceso de especiación van desde 1.67 ppm hasta 98.05 ppm. El proceso necesario para la determinación de esta fracción, sugiere que la liberación de la misma, desde la matriz en que se encuentra, no es sencillo y, por lo tanto, es muy probable que su biodisponibilidad sea baja.

Aún así, esta fracción también puede sufrir los procesos de oxidación y metilación antes descritos.

Las demás especies determinadas en este estudio, se presentan en concentraciones relativamente bajas. Las especies fuertemente enlazadas y las especies intercambiables alcanzan porcentajes relativos de mercurio de 2.97% y de 1.56%, respectivamente, con concentraciones máximas de 7.07 ppm para las especies fuertemente enlazadas y de 6.93 ppm para las especies intercambiables.

La fracción de mercurio correspondiente a la especie con mayor toxicidad, es decir, el mercurio orgánico, se encontró con una proporción relativa máxima del 0.55% y concentraciones tan bajas como de 2.45 ppm, sino es que no detectables; ésto puede deberse a la poca presencia de materia orgánica en los sitios de donde se tomaron las muestras analizadas. Hasta cierto punto, y tomando en cuenta el peligro que esta especie representa para la salud humana, estos resultados pueden llegar a ser alentadores en cuanto al consumo de cultivos contaminados se refiere.

Los resultados obtenidos para la fracción de especies de mercurio solubles en agua, cuya concentración más alta es de 0.1633 ppm, representando hasta un 0.05% del mercurio total presente en las muestras analizadas, fueron los esperados: asumiendo que los sitios de donde se obtuvieron las muestras están expuestos al ambiente y, por lo tanto, a la precipitación pluvial, estas especies han sido ya removidas de la matriz en la que se encontraban. A pesar de que los cultivos de la zona pudieran no estar contaminados por esta especie del mercurio, otro de los puntos importantes a considerar es la lixiviación de la misma a través del suelo; ésto puede dirigir al mercurio soluble en agua hacia los mantos freáticos, en donde se pueden llevar a cabo tanto la oxidación como la posterior metilación del mercurio arrastrado. Se tendría, entonces, que este metal estaría disponible para su bioacumulación en los organismos que habitan los ambientes acuáticos; así, el humano podría resultar intoxicado tras el consumo de dichos seres.

5.4 ESTUDIO DE BIODISPONIBILIDAD *IN VITRO*

Es necesario recordar que para efectos de este estudio, las muestras seleccionadas para la prueba de biodisponibilidad *in vitro* fueron aquellas que presentaron mayor concentración de mercurio total para cada municipio: para Pinal de Amoles, la muestra QP-08, con una concentración de 1198.71 ppm y para San Joaquín, la muestra QJ-11, con una concentración de 508.83 ppm.

En los gráficos 5.13 y 5.14 se observa el proceso de liberación del mercurio con respecto al tiempo en condiciones gástricas e intestinales de las muestras QJ-11 y QP-08, respectivamente.

En estos gráficos se observa que, de acuerdo a lo reportado en la literatura, la liberación del mercurio ocurre predominantemente a pH ácido, esto es, en condiciones gástricas. Sin embargo, es posible advertir ciertas diferencias en la cantidad de mercurio liberado en las dos muestras, tanto en condiciones gástricas como intestinales, siendo mayor en el caso de la muestra QP-08; ésto se correlaciona con la concentración total de mercurio en dicha muestra. Las diferencias en la liberación del mercurio pueden atribuirse al tipo de suelo que constituye cada muestra, es decir, la naturaleza y composición geoquímica del suelo representa un factor determinante en la fuerza de unión del metal a la matriz y, por lo tanto, en su liberación al medio.

Gráfico 5.13 Mercurio liberado (mg) de la muestra QJ-11 con respecto al tiempo en condiciones gástricas e intestinales.

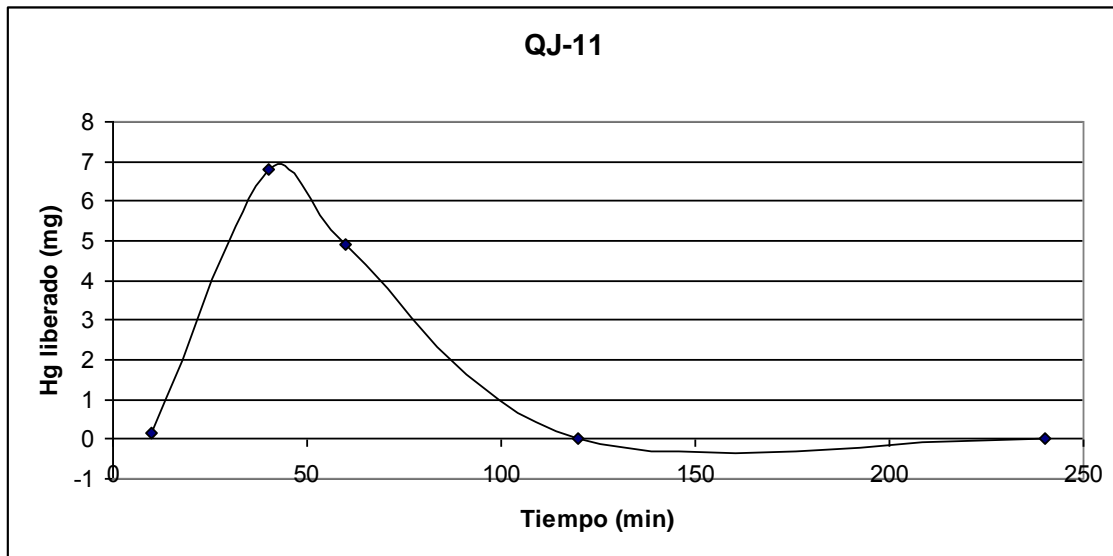
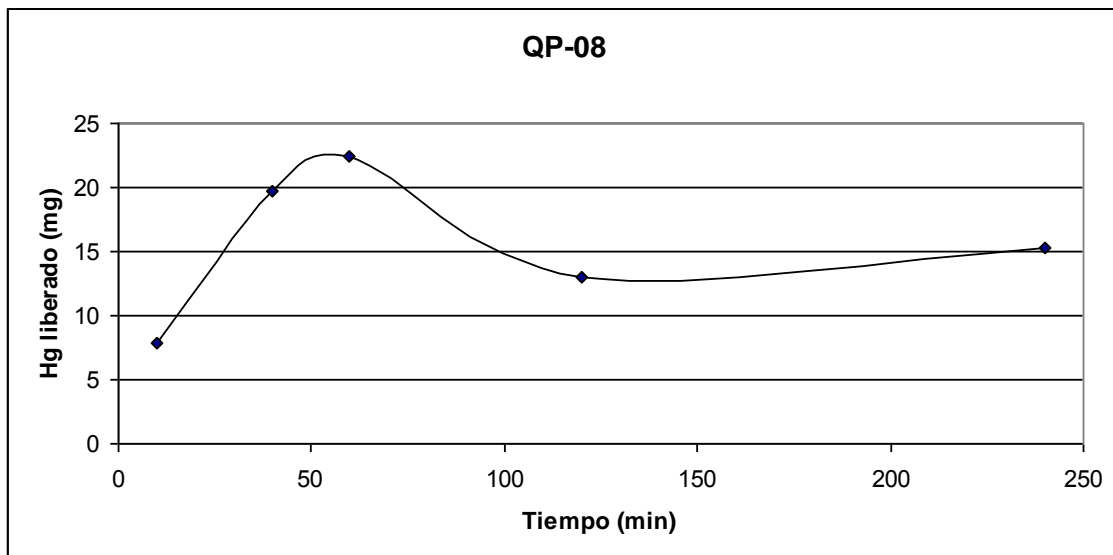


Gráfico 5.14 Mercurio liberado (mg) de la muestra QP-08 con respecto al tiempo en condiciones gástricas e intestinales.



En la tabla 5.6 se reporta la cantidad de mercurio presente en el suelo antes de realizar el ensayo (Hg_T), la cantidad de mercurio liberado a la solución al máximo tiempo del mismo (240 min) y la cantidad de mercurio en el sedimento, para las dos muestras seleccionadas. Aunque al observar la cantidad de mercurio liberado por cada muestra se podría pensar que el porcentaje que ésta representa con respecto a la cantidad total de mercurio presente en la muestra es bajo (0.19%, en el caso de la muestra QP-08), al hacer una comparación con la dosis de referencia (RfD) establecida por la Agencia de Protección Ambiental (EPA, por sus siglas en inglés) de 0.0003 mg/kg/día²⁴ para el agua de consumo humano, se observa que, para el caso de la muestra QP-08, esta dosis se rebasa en 51 000 veces dicha dosis; en cuanto al caso de la muestra QJ-11, en la que no es detectable la cantidad de mercurio, debe ser considerado que el límite de detección de la técnica instrumental antes de asegurar que la RfD es o no rebasada.

Tabla 5.6 Cantidad de mercurio presente en las muestras al inicio y final del ensayo de biodisponibilidad.

Muestra	Hg_T (mg)	Mercurio en solución al tiempo máximo (mg)	Mercurio en sedimento a los 240 min (mg)
QJ-11	3553.57	N.D.	2369.05
QP-08	7833.33	15.3	5250

La cantidad máxima de mercurio liberado de la muestra QJ-11 es de 6.817 mg, mientras que para la muestra QP-08 es de 22.4 mg; como un simple ejercicio, se calculó la cantidad de cada especie que pudiera estar presente en el medio tomando en cuenta los porcentajes encontrados en las muestras del proceso de especiación química secuencial del mercurio; los datos se muestran en la tabla 5.7.

Tabla 5.7 Cantidad de mercurio calculada, por especie, liberado al medio.

Muestra	QJ-11		QP-08	
	Hg/Hg _T (%)	Hg liberado (mg)	Hg/Hg _T (%)	Hg liberado (mg)
Total	100	6.817	100	22.4
Sol. Agua	0.004	0.0003	0.002	0.0004
Elemental	76.98	5.2477	82.86	18.561
Intercam.	0.022	0.0015	0.02	0.0045
F. Enlazado	0.83	0.0566	0.22	0.0493
Orgánico	0.19	0.0130	0.01	0.0022
Residual	11.46	0.7812	8.14	1.8234
Sulfuros	10.52	0.7171	8.75	1.96

La cantidad de cada una de las especies reportadas en la tabla anterior, además de ser un resultado supuesto, representa la fracción bioaccesible, es decir, aquella liberada al medio y que, por lo tanto, podría estar disponible para su absorción. Además, de acuerdo con lo reportado en la literatura, sólo cierto porcentaje de la fracción biodisponible es absorbido, en el tracto gastrointestinal, de acuerdo a su naturaleza química: sólo alrededor del 0.1% del mercurio elemental; aproximadamente 7% del mercurio inorgánico, presentando las sales mercúricas una mayor absorción que las sales mercurosas²⁵. El mercurio orgánico, por supuesto, presenta el mayor porcentaje de absorción, siendo el del metilmercurio aproximadamente del 90% al 100%. Es claro que el porcentaje de absorción de cada una de las especies depende directamente de su solubilidad tanto en agua como en fluidos gastrointestinales y de sus características fisicoquímicas.

Es importante recordar que la fracción biodisponible de cierta sustancia es aquella que alcanza la circulación sistémica y que, además, no es la misma, cuantitativamente hablando, que aquella que pudiera ser absorbida, sino menor. Tomando en cuenta el proceso necesario para llevar a cabo la extracción de las diferentes especies en el método de especiación química secuencial previamente descrito, incluyendo los reactivos necesarios para este objetivo, al igual que la estabilidad de cada una de las especies aquí estudiadas, puede ser una guía para suponer qué tan biodisponible puede

llegar a ser cada una de las mismas; sin embargo, se podría caer en el error de elaborar interpretaciones subjetivas y asociar los diferentes extractos a fracciones biodisponibles o móviles.

Evidentemente, los resultados reportados en este trabajo sugieren que la cantidad de mercurio, en cualquiera de sus especies, que puede entrar a la circulación sistémica después de una exposición oral al metal son mínimas. En la literatura se reporta que una dosis oral de 200g no causó efectos adversos a la salud en un niño, mientras que en el siglo XVIII se recomendaba tomar 50mL, aproximadamente 680g, de mercurio líquido como laxante¹¹. Efectos adversos del mercurio elemental, como temblor, irritabilidad, pérdida de memoria y fatiga, se observaron después de la ingestión de 220mL de esta sustancia¹¹. En cuanto al metilmercurio se refiere, se ha encontrado que, para ratas y ratones, la LD₅₀ de dicha especie se encuentra alrededor de los 10mg/kg, vía inyección²⁶, la cual es significativamente mayor a la cantidad de mercurio orgánico liberado en este estudio.

A pesar de los resultados obtenidos, se debe hacer énfasis de la naturaleza *in vitro* de este estudio, lo que nos permite hacer ciertas predicciones del comportamiento del contaminante *in vivo*, mas no aseveraciones: se sabe que, al ser el organismo un sistema dinámico, el comportamiento de ciertas sustancias en él puede llegar a diferir, ya sea en poca o gran proporción, del observado experimentalmente. Desafortunadamente, no existen datos reportados que hablen de datos de biodisponibilidad como para tener un conocimiento certero de la cantidad de mercurio que es capaz de llegar a la sangre después de haber sido liberado de este tipo de matrices.

CAPÍTULO 6

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

De los puntos de muestreo seleccionados con base en los antecedentes históricos de la minería del estado de Querétaro, se observa que, en efecto, en dichos sitios se encontraron muestras con alta concentración de mercurio, por lo que se asume que la metodología de selección y muestreo de los suelos fue el adecuado para cumplir con los objetivos de este estudio. Las muestras que sobrepasan los límites establecidos de concentración de mercurio total por la norma NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 para suelos de uso agrícola o residencial (23 mg/kg) son las correspondientes a las claves QJ-03 (36.81 mg/kg), QJ-06 (32.45 mg/kg) y QJ-11 (508.83 mg/kg) del municipio de San Joaquín, y QP-01 (261.5 mg/kg), QP-07 (436.2 mg/kg) y QP-08 (1198.71 mg/kg) para el municipio de Pinal de Amoles, pudiendo establecer una relación entre las altas concentraciones de mercurio y las actividades antropogénicas (minería) llevadas a cabo en las zonas correspondientes a dichos puntos de muestreo. Estos resultados instan a las autoridades responsables a implementar las medidas de remediación necesarias y adecuadas.

La especie del mercurio que se presenta en mayor proporción en las muestras sometidas al proceso de especiación química secuencial fue la del mercurio elemental (en forma de amalgama) representando hasta un 91%, en el caso del municipio de Pinal de Amoles, del mercurio total encontrado en dichas muestras. Debido a la estabilidad que a lo largo del tiempo ha presentado esta especie, se presume que el riesgo de movilización de la misma desde el suelo hacia otro compartimiento ambiental es bajo. Para el caso del sulfuro de mercurio, especie conocida como la más estable de este metal y cuya movilidad es prácticamente nula, e inclusive siendo la forma química presente de origen natural, se encontró también en porcentajes significativos en las muestras (hasta un 41.54%).

Por otro lado, el mercurio orgánico, especie de mayor toxicidad, se presenta hasta en un 0.55% del mercurio total de las muestras sujetas a especiación, porcentaje que puede ser considerado mínimo en comparación

con los de las especies antes mencionadas. En cuanto al mercurio soluble en agua se refiere, encontrándose en porcentajes tan bajos de hasta 0.05% del mercurio total de las muestras, se corrobora que ha sido movilizados de los suelos por procesos ambientales (precipitación pluvial).

En el ensayo de biodisponibilidad *in vitro* se observó que la liberación de mercurio se lleva a cabo en mayor proporción cuando el pH del medio es ácido, esto es, en condiciones gástricas, existiendo una disminución cuando los niveles de pH tienden a la neutralidad en condiciones intestinales. Las cantidades de mercurio liberadas a lo largo de este ensayo, representado éstas la fracción bioaccesible de mercurio, nos sugieren que la fracción biodisponible de dicho metal no alcanza las concentraciones necesarias para la aparición de efectos tóxicos que pongan en riesgo la salud humana.

En base a los resultados de este trabajo se sugiere:

- Llevar a cabo un estudio de concentraciones de mercurio que considere los diferentes horizontes de los puntos de muestreo, esto es, se recomienda llevar a cabo un muestreo vertical, pues se sabe que los diferentes horizontes presentan características diversas debido a procesos físicos, químicos y biológicos de la formación del suelo, poniendo mayor atención a los sitios que presentan una mayor concentración total de mercurio en muestras superficiales.
- Realizar una evaluación estacional (temporadas de lluvia y periodo de secas) de los sitios que permita establecer la movilidad del mercurio y sus especies en el suelo a otro compartimiento ambiental.
- Que la normatividad que establece los criterios para la determinación de las concentraciones de remediación de suelos contaminados por diferentes metales considere la importancia de referir las diferentes especies de los mismos, de acuerdo al riesgo de movilidad y toxicidad.

- Desarrollar ensayos de biodisponibilidad del mercurio *in vivo* que provean de los datos necesarios para determinar si el comportamiento de las formas químicas del mercurio puede ser predecible con un ensayo de la naturaleza del que se llevó a cabo en este trabajo, y así poder aseverar si las cantidades del mercurio liberado en condiciones gástricas e intestinales pueden o no representar un riesgo para la salud humana.

CAPÍTULO 7 BIBLIOGRAFÍA

1. Camargo J. *Contribution of spanish-american silver mines (1570-1820) to the present high mercury concentrations in the global environment: A review*. *Chemosphere* (2002), 48(1), pp. 51-57.
2. Cuapio, C., et al. *La explotación de mercurio en el distrito minero de San Joaquín, Querétaro, Mineralogía e Historia*. IX, Coloquio de Mineralogía, GEOS (2004), 24(2), p. 202.
3. Langenscheidt A., *La Minería en la Sierra Gorda*. *Arqueología Mexicana* (2006), 77(13), pp. 46-53.
4. *Panorama Minero del Estado de Querétaro*, Coordinación General de Minas, Secretaría de Energía (SE) (2008); www.sgm.gob.mx.
5. Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) (2009) http://www.inegi.org.mx/lib/olap/general_ver4/MDXQueryDatos.asp?#Regreso&c=10401
6. Enciclopedia de los Municipio de México, Querétaro (2009) <http://www.e-local.gob.mx/work/templates/enciclo/queretaro/municipios/22002a.htm>
7. Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). *Conjunto de Datos Geográficos de la Carta de Uso del Suelo y Vegetación, Serie II* (2005)
8. Wright, D. A. y Welbourn, P. *Environmental toxicology*. Cambridge university Press, Reino Unido (2002) 630 pp.
9. Gilbert, S. G. *A small dose of toxicology: The health effects of common chemicals*. CRC Press, E.U.A. (2004) 226 pp.

10. Goyer, R. A. et al (Editores). *Metal Toxicology*. Academic Press, San Diego (1995). 525 pp.
11. Waring, R. H. et al. *Molecules of Death*. 2a. ed. Imperial College Press, Reino Unido (2007) 430pp.
12. Mercury information for the State of Utah, EE.UU. (2009)
http://www.mercury.utah.gov/atmospheric_transport.htm
13. Settle, F. (Editor). *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*. Prentice-Hall Hispanoamericana, México (1997) 995pp.
14. Beaty, R. D. y Kerber, J. D. Concepts, *Instrumentation and Techniques in Atomic Absorption Spectrophotometry*. PerkinElmer Instruments, USA (2002) 77pp.
15. Skoog, D. et al. *Fundamentals of Analytical Chemistry*. 8a. ed. Thomsom-Brooks/Cole, México (2004).
16. United States Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, EE.UU. (2009)
<http://www.osha.gov/dts/sltc/methods/inorganic/id140/id140.html>
17. *Method 3050B: Acid Digestión of Sediments, Sludges, and Soils*. Environmental Protection Agency (EPA), EE.UU. (1996)
18. Olmos, J. *Estudio de los métodos de especiación química secuencial de mercurio en jales de minería*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química, UNAM (2006)
19. Oomen, A. G. et al. « *Comparison of Five In Vitro Digestion Models To Study the Bioaccessibility of Soil Contaminants* » en *Environmental Science Technology* (2002), 36, pp. 3326-3334.

20. Ruby, M.V. et al. « *Estimation of Lead and Arsenic Bioavailability Using a Physiologically Based Extraction Test* » en *Environmental Science Technology* (1996), 30, pp. 422-430.
21. NMX-AA-132-SCFI-2006 Muestreo de suelos para la identificación y la cuantificación de metales y metaloides, y manejo de la *muestra*. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, México.
22. *NOM-147-SEMARNAT/SSA-2004 que establece los criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio*. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, México.
23. *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos*. 8ª ed. Tomo I. Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, Secretaría de Salud, México (2004).
24. *Groundwater and Drinking Water: Technical Factsheet on: Mercury*. Environment Protection Agency, EE.UU. (2007)
<http://www.epa.gov/OGWDW/dwh/t-ioc/mercury.html>
25. Yokel, R. *The Metal Speciation Toxokinetics Database Index Page*. College of Pharmacy, University of Kentucky, EE.UU. (2009)
<http://pharmacy.mc.uky.edu/faculty/yokel/metal-toxicokinetics/absorption-oral/absorption-oral-mercury.htm>
26. Derelanko, M. J. y Hollinger, M. A. (Editores). *Handbook of Toxicology*. 2a. ed. CRC Press, E.U.A. (2002) 1414pp.

ABREVIATURAS

<i>EEA</i>	Espectrometría de Absorción Atómica
<i>EEAVF</i>	Espectrometría de Absorción Atómica de Vapor Frío
<i>EPA</i>	Agencia de Protección Ambiental
<i>FEUM</i>	Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos
<i>LD₅₀</i>	Dosis Letal 50
<i>msnm</i>	metros sobre el nivel del mar
<i>PBET</i>	Prueba de Extracción Fisiológica