



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**MODELADO BÁSICO PARA EL DESARROLLO
DE UNA METODOLOGÍA ANALÍTICA DE
RECUPERACIÓN DE MERCURIO(II) EN
SISTEMAS MODELO DE FITORREMEDIACIÓN
CON *Phaseolus vulgaris* COMO PLANTA
ACUMULADORA**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO

PRESENTA:

ELÍ SÁNCHEZ GONZÁLEZ



MÉXICO, D.F.

2010



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: Profesor: Dr. José Alejandro Baeza Reyes

VOCAL: Profesor: Dr. José de Jesús García Valdés

SECRETARIO: Profesor: Q.F.B. Gloria García Ramírez

1er. SUPLENTE: Profesor: Q.F.B. Adrián de Santiago Zárate

2° SUPLENTE: Profesor: Dra. Silvia Citlalli Gama González

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Laboratorio de Electroquímica Analítica y Química Micro-Analítica. Laboratorio Anexo 3F, Edificio A, Facultad de Química, Ciudad Universitaria, UNAM.

ASESOR DEL TEMA:

DR. JOSÉ ALEJANDRO BAEZA REYES

SUPERVISOR TÉCNICO:

Q. ARTURO DE JESÚS GARCÍA MENDOZA

SUSTENTANTE:

ELÍ SÁNCHEZ GONZÁLEZ

El presente trabajo se llevó al 45° CONGRESO MEXICANO DE QUÍMICA Y 29° CONGRESO NACIONAL DE EDUCACIÓN QUÍMICA, dentro del Concurso Nacional de Carteles Estudiantiles Nivel Licenciatura bajo el título: MODELADO BÁSICO DE UNA METODOLOGÍA PARA LA DETERMINACIÓN Y EXTRACCIÓN DE MERCURIO EN MUESTRAS SIMULADAS DE FITORREMEDIACIÓN CON *Phaseolus vulgaris*. Con el que se obtuvo una mención honorífica en la categoría de octavo y noveno semestres y/o en proceso de titulación del mencionado concurso. Se incluye el resumen del trabajo presentado en la sección de anexos.

Agradecimientos

A mi Universidad que me ha formado como profesional de la química.

A mi asesor, Alejandro, por todo el conocimiento compartido en este par de años que me recibió en su laboratorio.

Al Colegio de Profesores de la Facultad de Química de la UNAM (CoCoCol) y la sección 024 de la AAPAUNAM por el apoyo otorgado a través de la cátedra especial Alberto Urbina del Raso 2010-2.

*On fait la science avec des faits comme une maison avec des pierres;
mais une accumulation de faits n'est pas plus une science
qu'un tas de pierres n'est une maison.*

Jules Henri Poincaré (1854 – 1912)

Dedicatoria

A mis padres, Rocío Celeste González Andrade y Miguel Sánchez Pahuamba, cuyo ejemplo de vida dedicada al trabajo sin dejar de lado a la familia me ha mantenido en éste camino que a penas comienza.

Índice

Abreviaturas	8
Introducción	11
Objetivos e Hipótesis	14
Capítulo 1. Antecedentes generales	15
1.1 Mercurio.....	16
1.1.1 Mercurio y el ambiente	16
1.1.2 Propiedades del mercurio y sus compuestos	17
1.1.3 Toxicidad.....	18
1.1.4 Química en disolución acuosa del mercurio	19
1.2 Fitorremediación.....	23
1.2.1 Tipos de fitorremediación	24
1.2.2 Plantas hiperacumuladoras.....	27
1.3 Electroquímica.....	28
1.3.1 Electrolitos.....	28
1.3.2 Reacción electroquímica	30
1.3.3 Celdas electroquímicas	31
1.3.4 Doble capa eléctrica	33
1.3.5 Potencial electroquímico	35
1.3.6 Consideraciones cinéticas de la transferencia de carga.....	38
1.3.7 Transporte de masa	39
1.3.8 Transferencia de carga	42
1.3.9 Electroodos.....	43
1.3.10 Programas de perturbación	44
Capítulo 2. Cultivo de plantas y modelado de fitorremediación	51
2.1 Hidroponía.....	52
2.2 Técnica de cultivo.....	54
2.3 Disolución nutritiva	56
2.3.1 Materiales y reactivos	57
2.3.2 Preparación de disoluciones	58

2.4 Lote piloto	60
2.5 Simulación de fitorremediación	61
Capítulo 3. Tratamiento de la muestra	65
3.1 Secado de las plantas	66
3.1.1 Secado en estufa	67
3.1.2 Polvos de acetona	67
3.1.3 Secado asistido por microondas	68
3.2 Digestión de las plantas	70
3.3 Tratamiento para muestras simuladas de fitorremediación	72
Capítulo 4. Determinación electroquímica de mercurio.....	74
4.1 Equipo e instrumentación	76
4.2 Determinación con electrodo de carbón vítreo.....	78
4.3 Determinación con electrodo de oro	84
4.4 Muestras simuladas de fitorremediación	86
Capítulo 5. Recuperación de mercurio.....	94
5.1 Electrodeposición de mercurio sobre grafito	96
5.2 Electrodeposición de mercurio en muestras simuladas de fitorremediación.....	100
Capítulo 6. Conclusiones	105
Capítulo 7. Referencias	107
Capítulo 8. Anexos.....	114

Abreviaturas

A	área del electrodo [cm ²]
<i>a</i>	actividad
a.n.e.	antes de nuestra era
<i>C</i>	concentración analítica [mol/L]
D	diámetro [cm], coeficiente de difusión [cm ² /s]
<i>E</i>	potencial eléctrico [V]
<i>E</i> ⁰	potencial normal eléctrico [V]
<i>E</i> _{Ag AgCl}	potencial eléctrico qrespecto a la referencia Ag ⁰ AgCl _(s) KCl _{sat.} [V]
EA	electrodo auxiliar
<i>e.g.</i>	<i>exempli gratia</i>
ER	electrodo de referencia
ES	electrolito soporte
ET	electrodo de trabajo
<i>F</i>	constante de Faraday [96 485,3415 C/mol]
<i>f</i>	coeficiente de actividad
<i>G</i>	energía libre de Gibbs [J]
<i>H</i>	entalpía [J]
Hg	mercurio
HMX	ciclotetrametilentetranitramina
<i>i</i>	corriente eléctrica [A]
<i>I</i>	fuerza iónica [mol/L]
<i>i.e.</i>	<i>id est</i>
<i>J</i>	flujo [mol/(cm ² s)]
<i>k</i> ⁰	constante estándar heterogénea de velocidad de transferencia electrónica
<i>l</i>	líquido (subíndice)

<i>m</i>	número de mol de especie adsorbida
<i>n</i>	numero de mol
p	operador -log(x)
O	oxidante
PCP	pentaclorofenol
ppb	partes por billón [$\mu\text{g/L}$, mg/g]
ppm	partes por millón [mg/L , mg/kg]
ppt	partes por trillón [ng/L , $\mu\text{g/g}$]
<i>Q</i>	carga [C]
QP	reactivo químicamente puro
<i>R</i>	constante universal de los gases [$8,314472 \text{ J}/(\text{molK})$], resistencia [Ohm], reductor
RA	reactivo grado analítico
RDC	régimen de difusión convectiva
RDP	régimen de difusión pura
RDX	ciclotrimetiltrinitramina
rpm	revoluciones por minuto
<i>S</i>	entropía [J/K]
s	sólido (subíndice)
<i>T</i>	temperatura [$^{\circ}\text{C}$]
<i>t</i>	tiempo [s, min]
TNT	trinitrotolueno
<i>U</i>	energía interna del sistema [J]
<i>V</i>	volumen [L]
<i>v</i>	velocidad [cm^2/s]
VC	voltamperometría cíclica
VDP	voltamperometría diferencial de pulsos
VDPRA	voltamperometría diferencial de pulsos de redisolución anódica
VL	voltamperometría lineal
VRA	voltamperometría de redisolución anódica

$W_{\frac{1}{2}}$	ancho de medio pico [mV]
z	carga de una especie
α	parámetro de disociación, coeficiente de transferencia de electrones
γ	coeficiente de actividad estequiometrico
η	sobretensión [V]
μ	potencial químico [J/mol]
$\bar{\mu}$	potencial electroquímico [J/mol]
Φ	fracción de unidad
ϕ	potencial electrostático [V]
∇	gradiente

Introducción

El mercurio es uno de los metales más fascinantes para el hombre, siempre presente desde los inicios de la alquimia con los egipcios 5000 a.n.e., los griegos 331 a.n.e., los árabes 642 n.e., los chinos en el siglo VIII y los europeos hacia el siglo XI. Surge la química de estos últimos alquimistas, quienes pensaban que el mercurio era la *prima materia* de la cual estaban constituidos todos los metales. Los cuales, se pensaba, sólo diferían entre sí de acuerdo a la cantidad de mercurio y azufre que tenían ¹.

El mercurio se ha usado desde tiempos muy remotos, los egipcios 1500 a.n.e. utilizaban el mercurio en su forma de sulfuro como pigmento rojo, bermellón. En el primer siglo de nuestra era, *Plinio* describe una incidencia en el deceso de mineros trabajando en minas de mercurio, estos presentaban espasmos entre otros síntomas. Se sabe que los prisioneros sentenciados a muerte, eran enviados a dichas minas para cumplir su condena, seguramente con algunos meses de trabajo ².

No sólo los mineros sufrieron envenenamiento por mercurio, los sombrereros sumergían las pieles en disoluciones de nitrato de mercurio(II) como proceso en la elaboración del fieltro para los sombreros. Los espasmos y su manera trastabillada de hablar era tan común, que se le dio el nombre de la “enfermedad de los sombrereros”, como el “Sombrerero loco” (personaje de *Lewis Carroll* en *Alice’s Adventures in Wonderland*) ².

El mercurio es uno de los metales pesados más peligrosos, no sólo por su toxicidad sino por su movilidad en los estratos ambientales (suelo, aire y agua) ³. Hace algunos años ha surgido una alternativa verde para la remediación de suelos, la fitorremediación. Esta tecnología ambiental usa las plantas para degradar, transformar, inmovilizar o estabilizar contaminantes presentes en suelos, lodos y aguas de desecho entre otros ⁴. Las especies utilizadas no sólo tolerancia a la toxicidad de los metales en el suelo, sino que los hiperacumulan en su tejido ⁵. Para que una planta sea considerada hiperacumuladora, esta debe acumular grandes cantidades del metal, hasta cien veces más que otras plantas que hayan crecido en el mismo sustrato, el límite de tolerancia para la mayoría de los elementos es 0,1 % de la masa seca ⁶.

Los metales pesados, los metaloides y los isótopos radioactivos pueden ser inmovilizados o tomados por las plantas por medio de fitoestabilización, fitoextracción o fitofiltración, sin embargo no se metabolizan sino que se acumulan en la biomasa vegetal ^{7,8}. Es la fitoextracción el método de fitorremediación más socorrido, ya que usa plantas acumuladoras para la remoción de contaminantes orgánicos o inorgánicos, concentrándolos en aquellas partes susceptibles a cosechar. Permitiendo así, una constante renovación de la biomasa disponible para acumular los contaminantes.

El uso de la biomasa vegetal obtenida de la fitorremediación de metales está limitado por la presencia de estos tóxicos, por lo que es necesario diseñar procedimientos de desecho o almacenamiento de esta materia vegetal contaminada ⁹. La confinación por enterramiento o la elaboración de compostas no son adecuadas por la alta posibilidad de liberación al medio por lixiviación natural. Se ha sugerido la desecación, compactamiento y posterior incineración de la biomasa vegetal para la recuperación de los metales con valor comercial ⁶; sin embargo los estudios sobre este tema son todavía escasos ¹⁰.

En este trabajo se desarrolla una alternativa interesante para el tratamiento de esta biomasa, la extracción de los metales con complejantes amigables con el medio ambiente en condiciones químicas controladas ¹¹ (amortiguamiento múltiple) y la posterior recuperación de los mismos por vía electroquímica ¹².

En la literatura hemos encontrado que es posible extraer mercurio(II) en medios clorurados concentrados y su posterior separación por electrodeposición a corriente controlada ¹³. Por lo que es factible nuestra propuesta para diseñar una metodología para extraer y separar electrolíticamente el mercurio(II) presente en la biomasa vegetal proveniente de un sistema de fitorremediación.

Este trabajo surgió como parte de proyecto en colaboración con el Dr. José Luis Marrugo Negrete del Departamento de Química de la Facultad de Ciencias Básicas e Ingeniería, Universidad de Córdoba (Montería, Colombia). Dicho proyecto lleva como título "Remoción de mercurio en suelos por plantas que crecen en sitios contaminados con el metal en el norte de Colombia (mina El Alacrán en el departamento de Córdoba y mina Santa Cruz en el departamento de Bolívar)", y corresponde a nuestro trabajo dar las bases para el tratamiento de la biomasa vegetal contaminada con mercurio.

El uso de *Phaseolus vulgaris* como planta acumuladora de mercurio, es una aportación a la escasa información acerca de su uso en la fitorremediación de mercurio. Con lo cual, no pretendemos dar la solución al problema ambiental de los suelos contaminados con mercurio; sino aportar una metodología para su recuperación, ya que los trabajos encontrados comprenden una sola etapa del proceso y no siempre con la misma especie vegetal o el mismo metal. Por lo que hay una necesidad de unificar estos trabajos y proponer un modelo que sirva de base para futuros trabajos sobre la materia.

Objetivos e Hipótesis

Objetivos

El desarrollo de metodología para la recuperación de mercurio(II) extrapolable a suelos contaminados, para su uso en sistemas de fitorremediación.

Demostrar la viabilidad de *Phaseolus vulgaris* como planta acumuladora de mercurio(II) para su uso en la remediación de suelos *in situ*.

La elaboración de un protocolo para la extracción y recuperación por vía electroquímica de mercurio(II) de biomasa proveniente de un sistema de fitorremediación.

Hipótesis

Phaseolus vulgaris es una planta tolerante al mercurio(II).

Phaseolus vulgaris es una planta acumuladora de mercurio(II).

Capítulo 1. Antecedentes generales

1.1 Mercurio

El mercurio ha sido usado por el hombre desde la alquimia, cuando se pensaba que era el espíritu de los metales. Esto por su capacidad de disolver otros metales (a excepción del hierro) con la formación de amalgamas, y su forma de obtención a partir del cinabrio. Se calentaba el mineral en presencia de oxígeno, entonces desaparecía el sólido rojo y reaparecía como metal en la retorta, donde se condensaba el vapor de mercurio metálico y escapaba el azufre en forma de dióxido de azufre. Más impresionante era que se podía regenerar el cinabrio a partir del metal obtenido, agregando azufre elemental para formar el sulfuro de mercurio.

El mercurio y sus compuestos han sido utilizados para combatir ciertas enfermedades a lo largo de la historia. El mercurio metálico disperso en agua se utilizó para tratar el dolor de cabeza, constipación y melancolía (actualmente reconocida como depresión). El cloruro de mercurio(I) o calomel (Hg_2Cl_2) se utilizaba como laxante y desinfectante tópico; mientras que el cloruro de mercurio(II) únicamente se utilizaba para combatir la sífilis. Hoy en día se sabe que los compuestos de mercurio atacan las células del sistema nervioso, inducen espasmos, insomnio, trastornos de lenguaje y alucinaciones ¹.

1.1.1 Mercurio y el ambiente

El mercurio es uno de los metales pesados de mayor importancia ambiental, debido a su toxicidad y gran movilidad entre los estratos ambientales. La principal fuente natural de mercurio son las menas de cinabrio, típicamente ubicadas en lugares donde hubo actividad volcánica. Uno de los principales productores de mercurio es España, que tiene una larga historia en su producción y uso en la explotación de metales preciosos.

Uno de los primeros usos que tuvo como metal puro, fue para la extracción de metales preciosos como el oro y la plata, debido a su facilidad para formar amalgamas con

dichos metales (500 a.n.e.). Por falta de una conciencia ambiental y cuidado con su manejo, el mercurio se dispersó por todos estos terrenos mineros, donde permaneció aún después de que las minas se agotaron. Otras fuentes antropogénicas de mercurio son la industria de cloroalcali, baterías, alumbrado público e insecticidas entre otros ¹⁴.

En sistemas acuáticos el mercurio se encuentra principalmente en forma del ión mercúrico (Hg^{2+}), cuya solubilidad aumenta en presencia de ligantes inorgánicos como los iones cloruro o hidróxido, así como en presencia de compuestos orgánicos con azufre. En medios reductores puede pasar del ión mercúrico al dímero mercurioso (Hg_2^{2+}), el cual no es muy estable, por lo que tiende desproporcionarse en mercurio metálico y el ión mercúrico.

1.1.2 Propiedades del mercurio y sus compuestos

El mercurio elemental es un líquido lustroso a temperatura ambiente, su número atómico es 80, tiene una masa molar de 200,59 g/mol (tiene 7 isotopos naturales). Posee un punto de fusión alrededor de $-38,9\text{ }^\circ\text{C}$ y su punto de ebullición se encuentra alrededor de $367\text{ }^\circ\text{C}$. Es altamente volátil, tiene una presión de vapor de 0,24 Pa a $25\text{ }^\circ\text{C}$. Su densidad es de $13,534\text{ g/cm}^3$ ($25\text{ }^\circ\text{C}$) y posee una solubilidad en agua de $6,1 \cdot 10^{-5}\text{ g}_{\text{Hg}}/\text{kg}_{\text{H}_2\text{O}}$ ($25\text{ }^\circ\text{C}$).

Entre sus compuestos más importantes se encuentran los halogenuros de mercurio. En este trabajo se manejan los cloruros de mercurio(I) y mercurio(II). El cloruro de mercurio(I), también conocido como calomel, es un polvo blanco que tiene una baja solubilidad en agua 2 mg/L. Sublima sin fundirse en un intervalo de 400 a $500\text{ }^\circ\text{C}$, pero esto tal vez se deba a la desproporción en mercurio metálico y cloruro de mercurio(II). Se usa principalmente para la construcción de electrodos de referencia en electroquímica y también en la pirotécnica para dar una luz verde oscuro, aunque en algunos lugares esta prohibido su uso. En algún momento se utilizó como antiséptico para el tratamiento de la sífilis y como fungicida, aunque ya no se usa más por su toxicidad.

El cloruro de mercurio(II) es un sólido cristalino de color blanco, tiene un punto de fusión alrededor de $276\text{ }^\circ\text{C}$ y sublima sin descomponerse alrededor de $304\text{ }^\circ\text{C}$. Posee una solubilidad en agua de 74 g/L a $20\text{ }^\circ\text{C}$, además es soluble en alcohol etílico, éter, acetona y

acetato de etilo. Se usa como intermediario en la preparación de compuestos de mercurio como el óxido de mercurio(II) rojo y amarillo, yoduro de mercurio(II) y como intermediario en síntesis orgánica. Se usa en el proceso Boliden Norzink para remover mercurio de corrientes de gas como en la quema de gas natural o el refinamiento de metales donde el mercurio es una impureza. Hasta 1980 se utilizaba como catalizador en la preparación de cloruro de vinilo a partir de acetileno, pero casi desapareció su uso cuando se cambió el acetileno por etileno. Tuvo otros usos en el pasado, como intensificador en fotografía, en la preservación de madera y cuerpos, en la peletería y como fungicida, aunque todos estos han sido dejados de lado debido a su toxicidad ¹⁵.

El mercurio puede formar compuestos metilados en ambientes anaerobios. El dimetilmercurio es muy volátil a diferencia del metilmercurio, que debido a su solubilidad logra ser asimilado por ciertos organismos, de tal suerte que ingresa a la cadena trófica y propicia la bioacumulación del metal ¹⁶. Estos compuestos orgánicos tienen puntos de ebullición por debajo del mercurio elemental, dimetilmercurio 95 °C y dietilmercurio 159 °C.

1.1.3 Toxicidad

El mercurio elemental y metilmercurio son considerados como las dos formas más tóxicas del mercurio, que atacan el sistema nervioso central y periférico. La inhalación de vapores de mercurio puede causar severos daños al sistema nervioso, digestivo e inmune, pulmones y riñones. Las sales inorgánicas son corrosivas para la piel, ojos y tracto gastrointestinal, pueden dañar los riñones.

Se pueden presentar desórdenes neurológicos y de comportamiento después de la inhalación, ingestión o contacto con la piel de los compuestos de mercurio. Los síntomas incluyen espasmos, insomnio, pérdida de memoria, dolor de cabeza y disfunciones cognitivas y motoras. No hay evidencia directa que la exposición a mercurio conlleve a cáncer en humanos.

Los niños son los más vulnerables y pueden estar expuestos directamente si comen pescado contaminado. Si una mujer embarazada come pescado con metilmercurio

bioacumulado, puede ser que el feto en desarrollo presente problemas en el desarrollo neuronal. Los síntomas neuronales pueden ser retardo mental, ataques, pérdida auditiva y de la visión, desarrollo lento, desordenes de lenguaje y pérdida de la memoria.

La Organización Mundial de la Salud tiene como valores aceptables 1 $\mu\text{g/L}$ de mercurio total en agua, 1 $\mu\text{/m}^3$ (promedio anual) en aire, 0,2 $\mu\text{g/m}^3$ como concentración tolerable para exposición por tiempo prolongado a vapor de mercurio elemental, y 2 $\mu\text{g/kg}$ de peso corporal por ingesta diaria de mercurio total ¹⁷. En México las normas establecen las concentraciones límite de mercurio en suelo, para uso industrial es de 310 mg/kg y 23 mg/kg para uso agrícola, residencial y comercial ¹⁸.

1.1.4 Química en disolución acuosa del mercurio

Una estrategia para el estudio teórico de la química en disolución, es el uso de diagramas para predecir las especies involucradas en una reacción, dadas ciertas condiciones conocidas como pH, pL o pe. El primer acercamiento es el estudio de los diagramas logarítmicos de concentración en función de alguna partícula a intercambiarse, un ejemplo típico son los diagramas de solubilidad para los complejos hidróxido de cationes metálicos.

Dichos diagramas logarítmicos se obtienen a partir de la concentración molar efectiva de la especie en cuestión, la expresión del balance de masa y de la constante de equilibrio aparente ⁶⁰. Esta última dependiente de la fuerza iónica, lo cual se puede corregir con la ecuación de Davies ¹⁹. Aunque en el caso de los complejos hidróxido no hay gran influencia de la fuerza iónica sobre el valor de las constantes aparentes, como se observa en el diagrama logarítmico de solubilidad de los complejos hidróxido de mercurio(II) en agua *figura 1.1*.

Para el trazo de los diagramas presentados a continuación se utilizó el método gráfico propuesto en la literatura ²⁰, usando el método de polinomios reducidos de Ringbom para simplificar a ecuaciones lineales que facilitan el trabajo.

$Hg_m(OH)_{n,2m-n}$			$HgCl_{n,2-n}$		Especie		pK_s	
m	n	$\log\beta_{mn}$	n	$\log\beta_{mn}$				
1	1	10,6	1	6,74	HgO		25,44	
1	2	21,8	2	13,22	Hg ₂ Cl ₂		17,91	
1	3	20,9	3	14,1				
2	1	10,7	4	15,1				
3	3	35,6						

tabla 1.1 Valores de constantes de formación sucesivas de los complejos hidróxido (izquierda) y cloruro (centro) del catión mercurio (II), además de las constantes de solubilidad del óxido de mercurio(II) y el dicloruro de mercurio(II). Los datos son reportados a fuerza iónica $I = 0,0 \text{ mol/L}$, a excepción de los complejos con cloruro a $I = 0,5 \text{ mol/L}$ ²¹.

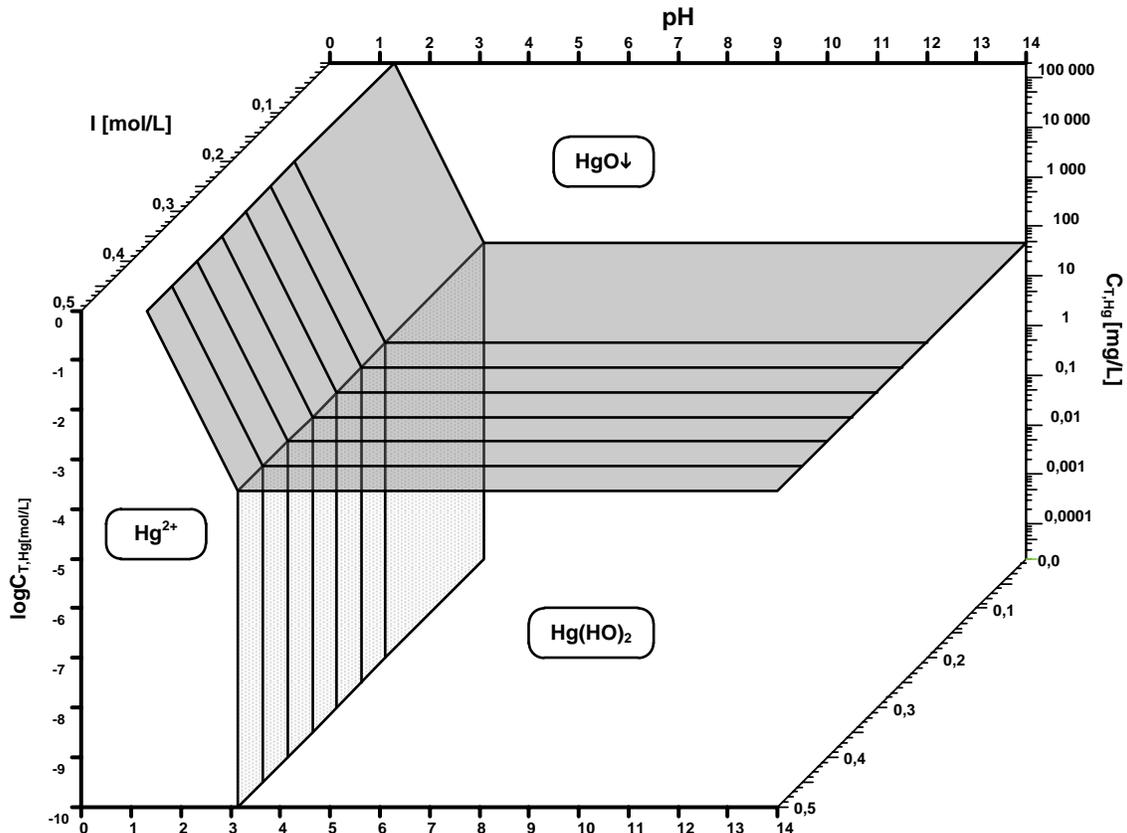


figura 1.1 Diagrama logarítmico de solubilidad de los complejos hidróxido del mercurio(II) en función del pH y la fuerza iónica, donde es evidente que no hay mayor influencia debida a la fuerza iónica de la disolución.

Al diagrama de solubilidad podemos agregar la presencia de los complejos con el ión cloruro, delimitando sus zonas de predominio de especies en función del pH, pCl y pM. Se trazó el diagrama en un intervalo de 0 – 5 unidades de pM, ya que por debajo de la solubilidad intrínseca el diagrama es el mismo (el pH de precipitación es constante). En cuanto a los complejos de cloruro se observa que tres de los complejos con el ión cloruro son estables, y uno de ellos dismuta, el complejo tricloruro de mercurio(II) *figura 1.2*.

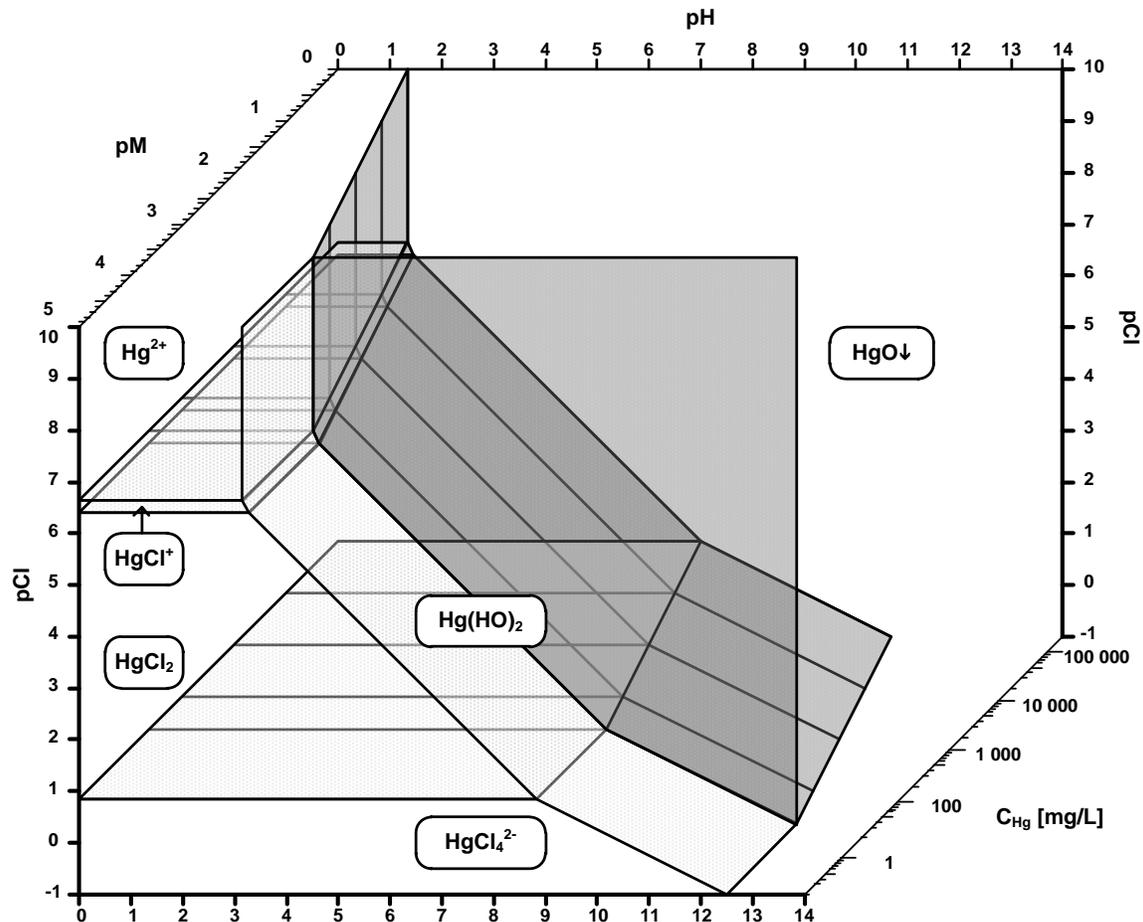


figura 1.2 Diagrama de predominio de especies para el ión mercurio(II), sus complejos hidróxido y cloruro en función del pH, pCl y pM, a fuerza iónica constante ($I = 0,5 \text{ mol/L}$).

El interés de este trabajo está orientado a la electroquímica del mercurio(II), es necesario conocer el diagrama de Pourbaix ($p_e = f(\text{pH})$) que nos permita estimar los potenciales de óxido-reducción característicos del metal y sus especies. En la *figura 1.3* se muestra el diagrama de predominio de especies (tipo Pourbaix) del mercurio(II), sus complejos hidróxido y cloruro, para un valor de $pM = 5$, a nivel de trazas.

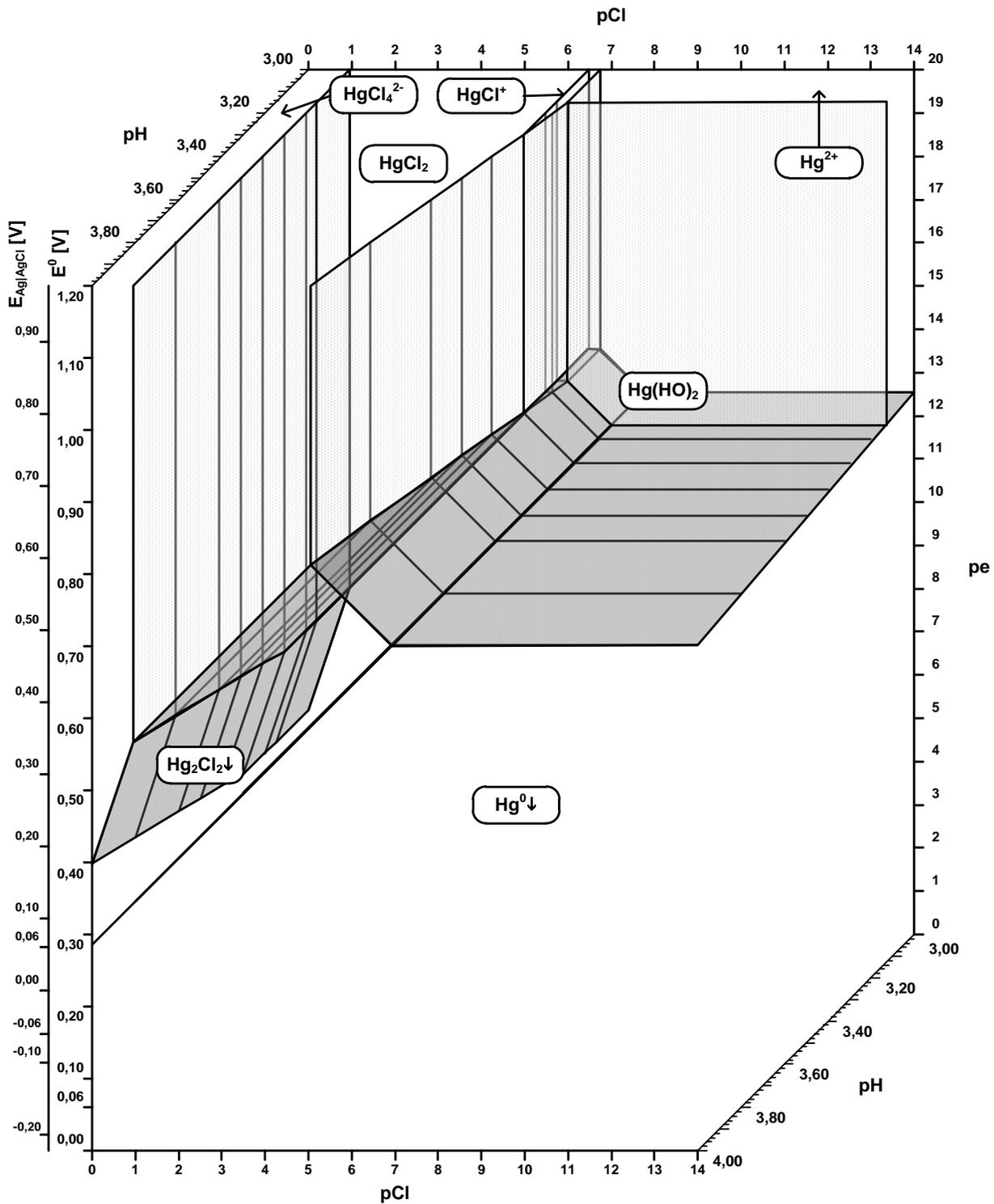


figura 1.3 Diagrama de predominio de especies (tipo Pourbaix) del mercurio(II), sus complejos hidróxido y cloruro, en función del pe , pCl y pH , para un $pM = 5$ y fuerza iónica $I = 0,5 \text{ mol/L}$.

Equilibrio	E° [V]	pK _a
$2\text{Hg}^{2+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Hg}_2^{2+}$	0,907	20,7
$2\text{H}^+ + \text{HgO}\downarrow + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Hg}^0 + \text{H}_2\text{O}$	0,926	31,3
$\text{Hg}_2^{2+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{Hg}^0$	0,792	26,8
$\text{Hg}_2\text{Cl}_2\downarrow + 2\text{e}^- \rightleftharpoons 2\text{Hg}^0 + 2\text{Cl}^-$	0,268	9,06
$\text{Hg}^{2+} + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{Hg}^0$	0,854	28,47

tabla 1.2 Valores de pontecial normal para las reacciones de óxido reducción del mercurio en agua, datos reportados a fuerza iónica $I = 0,0 \text{ mol/L}$ ²¹.

1.2 Fitorremediación

Todas las plantas poseen la capacidad de acumular metales pesados necesarios para su desarrollo (Fe, Mg, Zn, Mo, Mn y Cu), sólo algunas especies pueden acumular aquellos sin función biológica alguna (e.g. mercurio). La acumulación de metales pesados es tóxica para la mayoría de las plantas, pero algunas de estas desarrollan cierta tolerancia al metal en cuestión ⁷. De tal suerte que, el encontrar una planta que cumpla con las dos características, tolerancia al metal y bioacumulación, no es trivial.

La fitorremediación implica el uso de plantas para la limpieza medioambiental, tanto en suelos contaminados como en cuerpos de agua. Entre las características necesarias para que una planta sea candidata a la fitorremediación están el rápido crecimiento, gran biomasa, raíces profundas y acumular el metal en las partes aéreas de la planta (disponible para cosechar). No hay planta que cumpla con estos requisitos, por lo que se han desarrollado plantas modificadas genéticamente para ser hiperacumuladoras ⁵.

Uno de los problemas de la fitorremediación, es el fin que tiene la biomasa donde se acumulan los metales pesados, como es en nuestro caso. A diferencia de los compuestos orgánicos, los metales no se pueden degradar, se tiene que inmovilizar o remover físicamente. En cualquiera de los casos, podemos tener dos tipos de técnicas de tratamiento

in situ o *ex situ*, en esta última típicamente se retira el suelo del lugar afectado para ser tratado y posteriormente regresarlo detoxificado, lo que compromete la calidad del suelo.

Las técnicas *in situ* son aquellas que destruyen o transforman el contaminante, inmovilizan, reducen biodisponibilidad y separan el contaminante del suelo. Éstas se prefieren sobre las técnicas *ex situ* por ser tener un menor costo de operación, aunado a que el impacto ecológico es menor.

1.2.1 Tipos de fitorremediación

La fitorremediación puede aplicarse tanto a contaminantes orgánicos como inorgánicos, así como en sustratos sólidos, sustratos líquidos y el aire. Actualmente se divide en las siguientes aéreas ²²:

- **Fitoextracción**, el uso de plantas acumuladoras para remover contaminantes (orgánicos e inorgánicos) del suelo al concentrarlos en aquellas partes susceptibles a cosechar. También conocida como fitoacumulación, es la mejor opción para remover contaminantes del suelo y aislarlos sin destruir la estructura o afectar la fertilidad del suelo. La planta absorbe, concentra y precipita los isótopos radioactivos y metales tóxicos del suelo contaminado en la biomasa. Es recomendada para sitios donde el contaminante está muy disperso, en bajas concentraciones y a nivel superficial. Existen dos formas de hacerlo, la fitoextracción asistida por un quelato o fitoextracción inducida, y la fitoextracción continua. La primera consiste en agregar un compuesto quelato para incrementar la movilidad y absorción del metal contaminante, la segunda depende de la habilidad de la planta para acumular el metal durante todo su ciclo de vida. Es en la fitoextracción donde se necesita el uso de plantas hiperacumuladoras, tema desarrollado más adelante en este capítulo.
- **Fitodegradación**, el uso de plantas y microorganismos asociados para degradar contaminantes orgánicos (principalmente). Donde podríamos incluir la rizodegradación como un caso específico de las raíces ¹⁶. Ésta consiste en la

degradación de contaminantes orgánicos en moléculas más simples, que después son incorporadas al tejido vegetal. Las plantas poseen enzimas capaces de degradar y convertir residuos de municiones, disolventes clorados y herbicidas, típicamente dehalogenasas, oxigenasas y reductasas.

- **Rizofiltración**, el uso de las raíces de la planta para absorber y adsorber contaminantes, principalmente metales en agua o afluentes acuosos. Ésta utiliza tanto plantas terrestres como acuáticas, y puede aplicarse en el tratamiento de descargas industriales, descargas agrícolas y el drenaje ácido de las minas. Una de sus ventajas es la posibilidad de usarse como tratamiento *in situ* o *ex situ*, además de poder utilizar especies no necesariamente hiperacumuladoras.
- **Fitoestabilización**, el uso de las plantas para reducir la biodisponibilidad de los contaminantes en el medio ambiente. Un caso específico sería la rizoestabilización, donde los contaminantes quedan inmovilizados al ser adsorbidos sobre las raíces o al precipitarse en la rizosfera. Es usada en la remediación de suelos, sedimentos y lodos, por medio de sorción, precipitación, complejación o reducción de la valencia del metal. El propósito es disminuir la cantidad de agua que se percola a través de la matriz del suelo, que resultaría en la formación de un lixiviado tóxico, así se previene la erosión del suelo y la distribución del metal tóxico en otras áreas. Esto lleva consigo una gran desventaja, que el contaminante permanece en el suelo. Por lo que se tiene que combinar con otra técnica para retirarlo, sólo serviría para inmovilizar de manera rápida el contaminante.
- **Fitovolatilización**, el uso de plantas para volatilizar contaminantes. Incluye la toma de contaminantes del suelo, su transformación en formas volátiles y su transpiración a la atmósfera, por lo general en bajas concentraciones ⁹. Se ha usado para la remediación de tritio, compuestos de selenio, arsénico y mercurio; aunque presenta un problema, al liberar el contaminante al aire, éste puede dispersarse y generar un problema ambiental en otro sitio.

Las plantas presentan tres respuestas posibles de crecimiento en suelo contaminado con metales *figura 1.4*, las cuales se describen a continuación:

- **Metal excluyente**, estas evitan que el metal entre a las partes aéreas de la planta o mantienen una concentración baja y constante en un amplio intervalo, principalmente restringen el contaminante a sus raíces. La planta puede alterar la permeabilidad de sus membranas, cambiar la capacidad de unión a las paredes celulares o exudar agentes quelantes.
- **Metal indicadora**, estas especies acumulan el metal en sus tejidos aéreos y generalmente reflejan el contenido del contaminante en el suelo. Estas especies toleran la concentración del metal produciendo compuestos intracelulares quelantes, o alternadamente presentan un patrón de compartimentalización del metal, almacenándolo en partes no sensitivas.
- **Metal acumuladora**, estas especies concentran los metales en sus partes aéreas en niveles por encima de la concentración en suelo. De éstas se distingue un grupo llamado hiperacumuladoras, cuya capacidad para absorber y concentrar contaminantes, ya sea en sus raíces, tallos u hojas, se encuentra por encima del promedio (descritas en la siguiente sección).

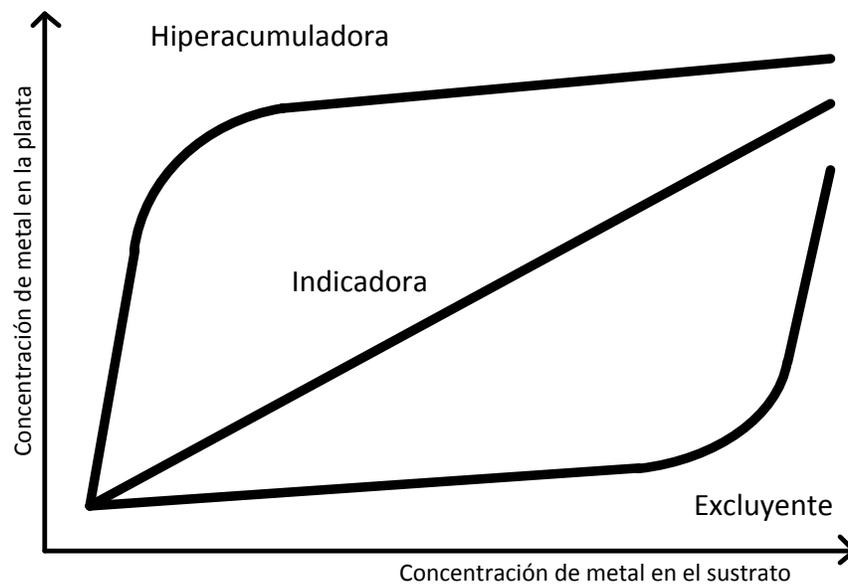


figura 1.4 Comparación de las respuestas de plantas creciendo en suelos contaminados.

1.2.2 Plantas hiperacumuladoras

Las plantas hiperacumuladoras son aquellas capaces de acumular altas concentraciones de metales pesados. Normalmente acumulan cien veces más metal que una planta no acumuladora en las mismas condiciones de crecimiento. Se denominan hiperacumuladores aquellas plantas que acumulen el metal por arriba del 0,1 % de su masa seca (1000 mg/kg), siendo ésta la concentración de tolerancia a la mayoría de los elementos con excepción del zinc (10 000 mg/kg), cadmio (100 mg/kg) y oro (1 mg/kg) ⁶. Se ha reportado que una planta hiperacumuladora de mercurio se considera tal al acumular más de 10 mg/kg de masa seca ^{23,24}.

Existen plantas modificadas genéticamente para su uso en la fitorremediación, a las cuales se le insertan genes de bacterias detoxificantes de mercurio, lo que aumenta su tolerancia al mismo y facilita su volatilización. Los más comunes, son merA reductasa de ión mercurio y merB liasa organomercurial ²⁵. La expresión de merB cataliza la liberación del ión mercúrico de compuestos orgánicos y la de merA la reducción del ión mercúrico a mercurio elemental. Siendo merA la causante de la fitovolatilización del mercurio elemental, por lo que no se permite el uso de plantas modificada con este gen, ya que aumenta la movilidad del mercurio sacándolo del suelo y llevándolo a la atmósfera. Por lo que se han buscado plantas para ser modificadas solamente con merB, que transformen compuestos orgánicos de mercurio a mercurio inorgánico, reduciendo la biodisponibilidad del mercurio ²⁶.

Entre las plantas acumuladoras de mercurio se encuentran el lirio acuático (*Eichornia crassipes*), lechuga de agua (*Pistia stratiotes*), junco (*Scirpus tabernaemontani*), taro o papa china (*Colocasia esculenta*) ²⁷, sorgo (*Sorghum vulgare*), alfalfa (*Medicago sativa*), maíz (*Zea mays*) ²⁸, espinaca de agua (*Ipomoea aquatica*) ²⁹, mostaza india (*Brassica juncea*) ³⁰, esta última también dentro de las plantas modificadas genéticamente como *Arabidopsis thaliana*, *Populus deltoide*, tulipero (*Liriodendron tulipifera*), tabaco (*Nicotiana tabacum*) ^{25,31}. Se conoce poco acerca de la capacidad de *Phaseolus vulgaris* para acumular mercurio ³², aunque ya ha sido estudiado para la remediación de suelos contaminados con compuestos orgánicos como el pentaclorofenol (PCP), trinitrotolueno (TNT), ciclotrimetilentrinitramina (RDX) y ciclotetrametilentrinitramina (HMX) ²⁸.

1.3 Electroquímica

La electroquímica analítica puede definirse como “el estudio de los procesos de reacción que ocurren en la interfase conductor disolución, generados espontáneamente o por medio de una perturbación externa con el objetivo de resolver un problema de tipo químico”³³. Se puede decir entonces, que las técnicas electroanalíticas son aquellas a las que concierne la interacción entre la electricidad y la química, dando un seguimiento con la medición de parámetros eléctricos y su relación con parámetros químicos³⁴.

En los sistemas electroquímicos se estudian los procesos y factores que afectan el transporte de carga a través de la interfase entre un conductor eléctrico (electrodo) y un conductor iónico (electrolito). Generalmente los electrodos son metales (e.g. platino, oro y mercurio), carbono (e.g. grafito y carbón vítreo) y algunos semiconductores (e.g. silicio y óxidos de indio estaño). Típicamente los electrolitos utilizados son disoluciones con especies iónicas, ya sea en agua o disolventes no acuosos, aunque existen otros electrolitos menos convencionales como las sales fundidas, líquidos iónicos y polímeros iónicoconductores. Una característica importante para elegir el electrodo y electrolito adecuado es que la interfase debe tener la menor resistencia eléctrica posible³⁵.

1.3.1 Electrolitos

Una sustancia que se encuentra presente en una disolución en forma de iones, o al menos parcialmente disociada, se conoce como electrolito. A la disociación de moléculas neutras para formar iones cargados se le conoce como disociación electrolítica. Estos iones cargados se llaman cationes cuando su carga es positiva, y aniones cuando la carga es negativa. Dichos iones se mueven dentro de un campo eléctrico debido a su carga, los cationes hacia el cátodo y los aniones hacia el ánodo³⁶.

Estas disoluciones iónicas o electrolitos, se pueden comportar como conductores eléctricos en presencia de un campo eléctrico debido a la presencia de los iones. Estos medios iónicos pueden estar formados por electrolitos verdaderos (ionóforos) o electrolitos potenciales (ionógenos). Los ionóforos son sustancias que en su estado puro están formadas por iones unidos por fuerzas electrostáticas, generalmente en una red cristalina bien definida, *i.e.* especies *per se* ionizadas. Los ionógenos son aquellas sustancias que en su estado puro no se encuentran ionizadas, o presentan una ionización despreciable, y necesitan interactuar con un ionóforo u otro ionógeno para generar un medio iónico.

La electroquímica analítica generalmente se avoca al estudio de medios iónicos constituidos por la combinación de dos o más electrolitos, conocidos como disoluciones electrolíticas y se clasifican de la siguiente manera:

- Uno o varios electrolitos verdaderos disueltos en un electrolito potencial líquido (disolvente disociante). El medio es formado por la separación de la red cristalina a causa de las propiedades del disolvente, interacción fisicoquímica. (e.g. disolución de KCl en agua)
- Uno o varios electrolitos potenciales disueltos en un electrolito potencial líquido. El medio se genera por el intercambio de partículas en la disolución, generando iones de manera tal que la cuantitatividad de la disociación está dada por la fuerza relativa de los donadores y receptores, interacción química. (e.g. un ácido o una base no nivelada en agua)
- Uno o varios electrolitos verdaderos disueltos en un electrolito verdadero. Donde el medio iónico está formado por los mismos iones que constituyen los componentes mezclados. (e.g. líquidos iónicos)
- Uno o varios electrolitos potenciales disueltos en un electrolito verdadero. El medio iónico está dado en mayor medida por el electrolito verdadero y una contribución de interacciones dadas por el intercambio de partículas en la disolución. (e.g. ácidos o bases no niveladas en líquidos iónicos)

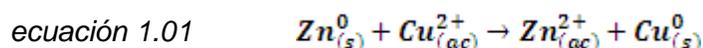
En medios acuosos tenemos el caso de un electrolito potencial donde se pueden encontrar disueltos electrolitos verdaderos (electrolitos totalmente disociados) o electrolitos potenciales; estos pueden estar casi totalmente disociados (electrolitos fuertes), poco disociados (electrolitos débiles), o con una disociación moderada (electrolitos de fuerza media) ³⁷.

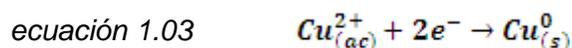
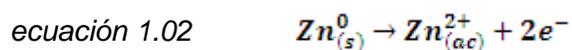
1.3.2 Reacción electroquímica

Las reacciones electroquímicas son reacciones de transferencia de electrones entre pares óxido reductores que tienen lugar en la interfase conductor eléctrico (electrodo) y conductor iónico (electrolito), y poseen las siguientes características:

- **Son reacciones en sistemas heterogéneos**, ya que ocurren en la interfase electrodo disolución, donde ésta puede ser acuosa, no acuosa, sal fundida, membranal, etc.
- **Son reacciones fuera del equilibrio**, la concentración de las especies involucradas en las cercanías de la interfase varía con el tiempo.
- **Son unidireccionales**, los electrones intercambiados van de una especie a otra especie óxido reductora, donde la especie que cede electrones se oxida (ánodo) y la especie que los recibe se reduce (cátodo).
- **Son compartamentalizadas**, cada interfase electrodo disolución está separada de la otra para evitar interferencias.

La forma más sencilla de ver la reacción electroquímica es una reacción de óxido reducción, aproximación meramente química. Dicha reacción se divide en dos semirreacciones, una donde una especie reactiva se oxida y otra se reduce. A continuación se muestra una reacción de óxido reducción y sus respectivas semirreacciones:





En la *ecuación 1.01* el zinc metálico se oxida al catión zinc(II), y el catión cobre(II) se reduce a cobre metálico.

1.3.3 Celdas electroquímicas

Las celdas electroquímicas pueden clasificarse en celdas galvánicas y electrolíticas. Las celdas galvánicas son aquellas donde la reacción electroquímica ocurre de manera espontánea cuando los electrodos están unidos por un conductor, la energía química se transforma en energía eléctrica. Las celdas electrolíticas son aquellas en donde es necesario imponer un potencial mayor al potencial de la celda para que tenga lugar la reacción electroquímica, la energía eléctrica se convierte en energía química *figura 1.5*.

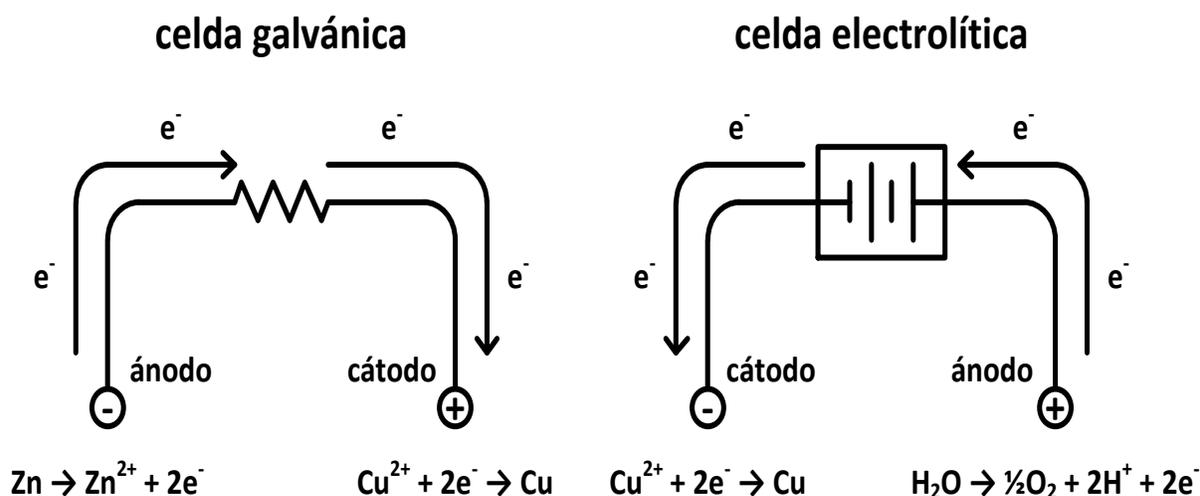


figura 1.5 Representación gráfica de una celda galvánica y una celda electrolítica.

Al imponer un potencial sobre el electrodo de trabajo, siendo éste diferente al potencial de equilibrio del sistema puede ocurrir la siguiente serie de procesos (*figura 1.6*):

1. Reacción electroquímica: $O + ne^- \rightarrow R$ (reducción).
2. Adsorción del oxidante libre o algún compuesto oxidante ligante, antes de la reducción.
3. Adsorción del reductor libre o algún compuesto reductor ligante, después de la reducción.
4. Disociación de algún compuesto oxidante ligante, antes de la reducción.
5. Formación de algún compuesto reductor ligante, después de la reducción.
6. Transporte del compuesto oxidante ligante del seno de la disolución a la interfase electrodo disolución.
7. Transporte del compuesto reductor ligante de la interfase electrodo disolución al seno de la disolución.

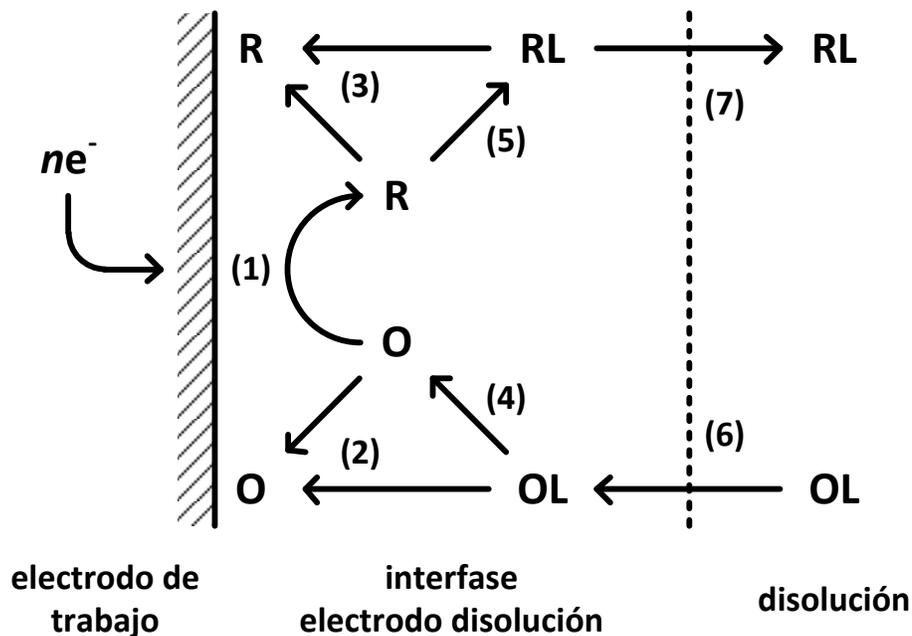


figura 1.6 Posibles procesos que tienen lugar en las cercanías del electrodo al imponer una diferencia de potencial diferente al potencial de equilibrio.

Todos los eventos ocurren simultáneamente, aunque no necesariamente todos los procesos listados acontecen a excepción del transporte de masa y el intercambio de electrones. A continuación se presenta el esquema fenomenológico de los pasos generales de una reacción electroquímica ³³.

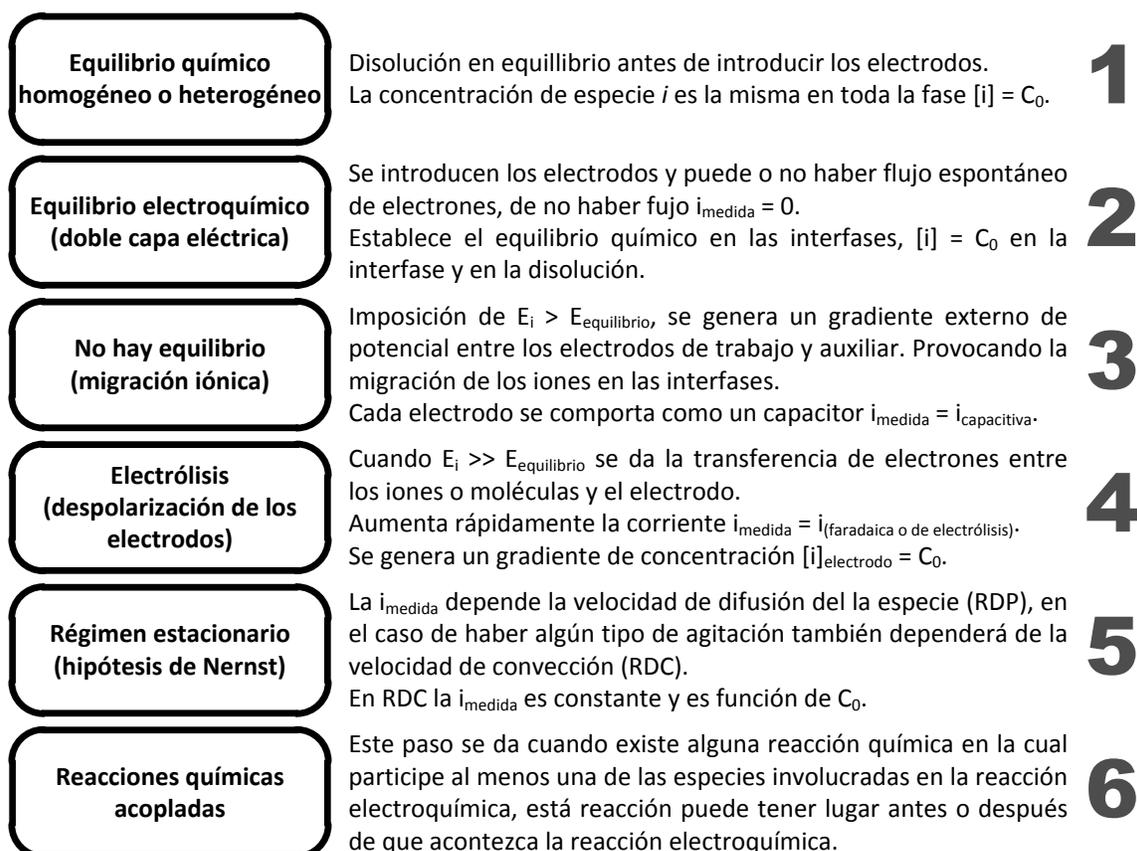


figura 1.7 Esquema fenomenológico del proceso electroquímico ³³.

1.3.4 Doble capa eléctrica

Al aplicar una diferencia potencial entre los electrodos, éstos se polarizan propiciando la acumulación de carga en su superficie y aunado a la influencia del campo eléctrico, los iones con carga contraria son atraídos al electrodo polarizado, mientras que los iones con misma carga son repelidos. Esto da lugar a la formación de una capa de iones junto al electrodo, interfase que se comporta como un capacitor *figura 1.8*.

La doble capa eléctrica se compone de diferentes partes, la primera parte es la capa interna (plano interno de Helmholtz), contiene iones específicamente adsorbidos (no completamente solvatados) y moléculas del disolvente, definida por la posición de los iones específicamente adsorbidos. La siguiente, es la capa externa (plano externo de Helmholtz) representada por el plano imaginario que atraviesa el centro del ión solvatado en su posición más cercana a la superficie, estos iones son no específicamente adsorbidos y son atraídos a la superficie por fuerzas coulombicas de larga distancia.

Ambas capas de Helmholtz representan la capa compacta, la cual esta fuertemente unida al electrodo e incluso puede persistir aún después de retirar el electrodo de la disolución. Dicho modelo no considera las contribuciones térmicas del movimiento iónico, las cuales desplazan los iones de la capa compacta hacia la capa difusa (capa de Guoy). Ésta en una región tridimensional de iones dispersos que va del plano externo de Helmholtz al seno de la disolución ³⁴.

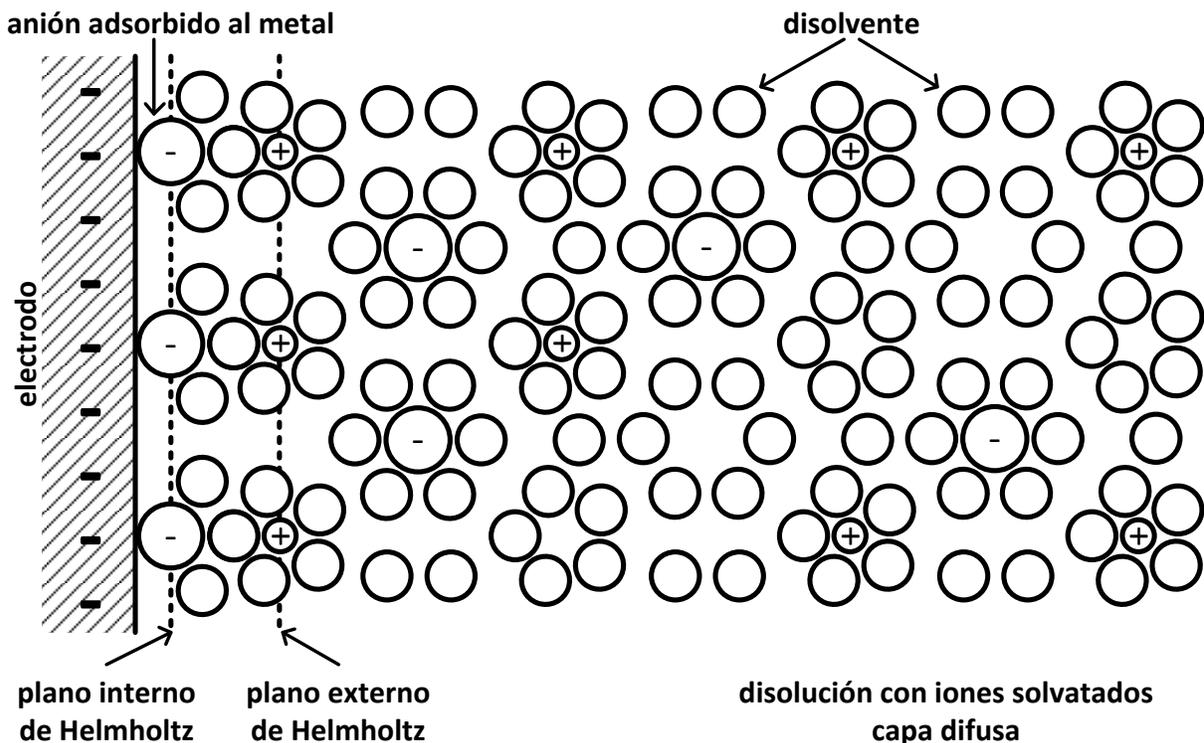


figura 1.8 Representación esquemática de la doble capa eléctrica del modelo de Bockris, Devanathan y Muller.

El modelo de la doble capa de Helmholtz (cuyo primer trabajo data de 1850), supone la rigidez de los iones en la doble capa, mientras que Gouy (1910) y Chapman (1913) propusieron su modelo de la capa difusa, en donde los iones son considerados cargas puntuales y tienen una movilidad debida a la temperatura (movimiento térmico). Los iones van del seno de la disolución a la superficie del electrodo, son simultáneamente atraídos y rechazados en la superficie. Sin embargo, los resultados experimentales se ajustan al modelo en un intervalo pequeño. El modelo de Stern involucra los dos modelos, dando rigidez en la movilidad de los iones en la doble capa y dispersión en el seno de la disolución, supone que los iones pueden llegar a una distancia x del electrodo llamada “plano de máxima aproximación” la cual está determinada por el radio de hidratación de los iones, por lo que se forman dos regiones, la capa compacta y la capa difusa.

Graham introduce el concepto de plano interno de máxima aproximación, límite al que pueden llegar los iones adsorbidos, dicha distancia es menor a la de la capa de cationes del plano externo de Helmholtz. El modelo de Bockris, Devanathan y Muller involucra los dipolos del disolvente y los iones adsorbidos. En este modelo, los cationes están separados del conductor sólido por varias capas de disolvente, no solamente por las moléculas de solvatación. Éste modelo puede explicar, entre otras cosas, la adsorción de algunas moléculas orgánicas al electrodo ³³.

1.3.5 Potencial electroquímico

El estudio de los sistemas electroquímicos generalmente se hace a temperatura y presión constantes, bajo estas condiciones se eligen la energía libre de Gibbs y la entalpía como las funciones termodinámicas más convenientes para dicha tarea.

ecuación 1.04

$$G = U + pV - TS$$

ecuación 1.05

$$H = U + pV$$

donde G es la energía libre de Gibbs, H la entalpía, U es la energía interna, V es el volumen y S la entropía. Los valores de estas funciones cambian durante el proceso

termodinámico, los procesos donde la energía libre de Gibbs decrece se llevan a cabo de manera espontánea ($\Delta G < 0$).

En sistemas con varios componentes, el valor de la función depende de la naturaleza y número de componentes. La energía libre de Gibbs es una función aditiva para todos los componentes, para sistemas con componentes puros:

$$\text{ecuación 1.06} \quad G = \sum_k n_k G_k$$

$$\text{ecuación 1.07} \quad dG = \sum_k \frac{dG_k}{dn_k} dn_k = \sum_k \mu_k dn_k$$

donde G_k es la energía libre de Gibbs molar [J/mol] del componente k y n_k es el número de moles del componente. El valor total de la energía libre de Gibbs no depende sólo del número de componentes en una fase, sino también depende de su concentración. Al considerar pequeños cambios en la composición aparece el término μ_k , potencial químico.

El potencial químico [J/mol] puede definirse en función de la actividad de la especie k para disoluciones lo suficientemente diluidas, disoluciones ideales:

$$\text{ecuación 1.08} \quad \mu_k = \frac{dG_k}{dn_k}$$

$$\text{ecuación 1.09} \quad \mu_k = \mu_k^0 + RT \ln a_k$$

donde μ_k^0 es el potencial químico estándar, R la constante universal de los gases y a_k la actividad de la especie k . El término de actividad definido por Gilbert N. Lewis, al considerar dilución infinita el límite de la actividad es igual a la concentración de la especie k . Para fases de un solo componente de composición constante, ya sea sólido o líquido, la actividad se toma como uno. El grado en que se aleja un sistema de su estado ideal se puede definir por su coeficiente de actividad *ecuación 1.10*, correlación entre actividad y concentración:

$$\text{ecuación 1.10} \quad a_k = f_k C_k$$

Cuando se trabaja con disoluciones electrolíticas aparecen dos parámetros involucrando las actividades de los iones j respectivos, la actividad electrolítica a_k y el

promedio de la actividad iónica a_{\pm} ecuación 1.11. En disoluciones con electrolitos binarios la actividad iónica depende de la concentración inicial C_k , el coeficiente estequiométrico ν , el coeficiente de actividad f_j y un parámetro relacionado con el grado de disociación α ecuación 1.09.

$$\text{ecuación 1.11} \quad a_k \equiv a_{\pm}^{\nu_k} \equiv a_+^{\nu_+} a_-^{\nu_-}$$

$$\text{ecuación 1.12} \quad a_j = f_j \alpha \nu_j C_k = \gamma_j \nu_j C_k$$

donde el parámetro de disociación α y el coeficiente de actividad f_j , forman el coeficiente de actividad estequiométrico γ_j , el cual es prácticamente igual al coeficiente de actividad para disoluciones de electrolitos verdaderos.

Al substituir las ecuaciones de actividad iónica en la ecuación del promedio de actividad iónica obtenemos:

$$\text{ecuación 1.13} \quad a_{\pm} = \alpha f_{\pm} \lambda C_k$$

donde f_{\pm} es el promedio de los coeficientes de actividad iónica y λ es un factor numérico debido a los coeficientes estequiométricos.

$$\text{ecuación 1.14} \quad f_{\pm}^{\nu_k} \equiv f_+^{\nu_+} f_-^{\nu_-} \quad \text{ecuación 1.15} \quad \lambda \equiv (\lambda_+^{\nu_+} \lambda_-^{\nu_-})^{1/\nu_k}$$

La energía de un ión en un medio dado, no depende sólo de las interacciones químicas, sino también del campo electrostático. Se define entonces el potencial electroquímico, con dos contribuciones, el potencial químico y un término con el potencial electrostático.

$$\text{ecuación 1.16} \quad \bar{\mu}_j = \mu_j \pm z_j F \phi$$

$$\text{ecuación 1.17} \quad \bar{\mu}_j = \mu_j^0 + RT \ln a_j \pm z_j F \phi$$

donde $\bar{\mu}_j$ es el potencial electroquímico, z_j la carga de la especie j , F la constante de Faraday y ϕ el potencial electrostático de la fase que contiene el ión. Este último término no

es independiente del potencial químico, sólo se puede tomar como constante en condiciones de dilución infinita ³⁸.

1.3.6 Consideraciones cinéticas de la transferencia de carga

Durante la reacción electroquímica los principales parámetros a registrar son la diferencia de potencial y la intensidad de corriente. Al medir la diferencia de potencial, el potencial medido no depende solamente del potencial impuesto entre los electrodos, sino que incluye varios aportes:

$$\text{ecuación 1.18} \quad \Delta E_{\text{medido}} = (E_i + E_j + iR) - E_{\text{ref}}$$

donde E_i es el potencial impuesto por un potencióstato; E_j es el potencial de unión líquida, formado cuando se ponen en contacto dos fases iónicas separadas en forma semipermeable; iR es el aporte de potencial debido a la resistencia del circuito; y E_{ref} es el potencial del electrodo de referencia. Por lo general las contribuciones de unión líquida y resistencia del circuito son mínimas, siempre que se tienen las consideraciones experimentales pertinentes.

La corriente medida durante la imposición de potencial consta de varios aportes:

$$\text{ecuación 1.19} \quad i_{\text{medida}} = i_{\text{capacitiva}} + i_{\text{faradaica}}$$

donde $i_{\text{capacitiva}}$ es la corriente capacitiva que se genera con la formación de la doble capa eléctrica, siempre presente. La $i_{\text{faradaica}}$ es la corriente faradaica o de electrólisis, que se toma como un indicador de la velocidad de la reacción electroquímica. La velocidad de la reacción, y por tanto la corriente de electrólisis dependen de la forma en la que la especie llega al electrodo, la velocidad de transferencia electrónica, las reacciones químicas acopladas y los fenómenos de adsorción en la superficie del electrodo.

1.3.7 Transporte de masa

El transporte de masa en disolución ocurre por difusión, migración y convección; donde a difusión y migración son resultado de un gradiente de potencial electroquímico, y la convección es resultado de un cambio en las fuerzas en la disolución:

- **Difusión**, el movimiento espontáneo bajo la influencia de un gradiente de concentración, *i.e.* de regiones muy concentradas a regiones de menor concentración.
- **Convección**, transporte hacia el electrodo por algún movimiento físico, *i.e.* agitación y flujo de la disolución y agitación o vibración del electrodo (convección forzada), o por gradientes de densidad o temperatura (convección natural).
- **Migración**, el movimiento de las partículas cargadas dentro de un campo eléctrico, *i.e.* la carga es transportada por los iones a través de la disolución de acuerdo a su número de transporte.

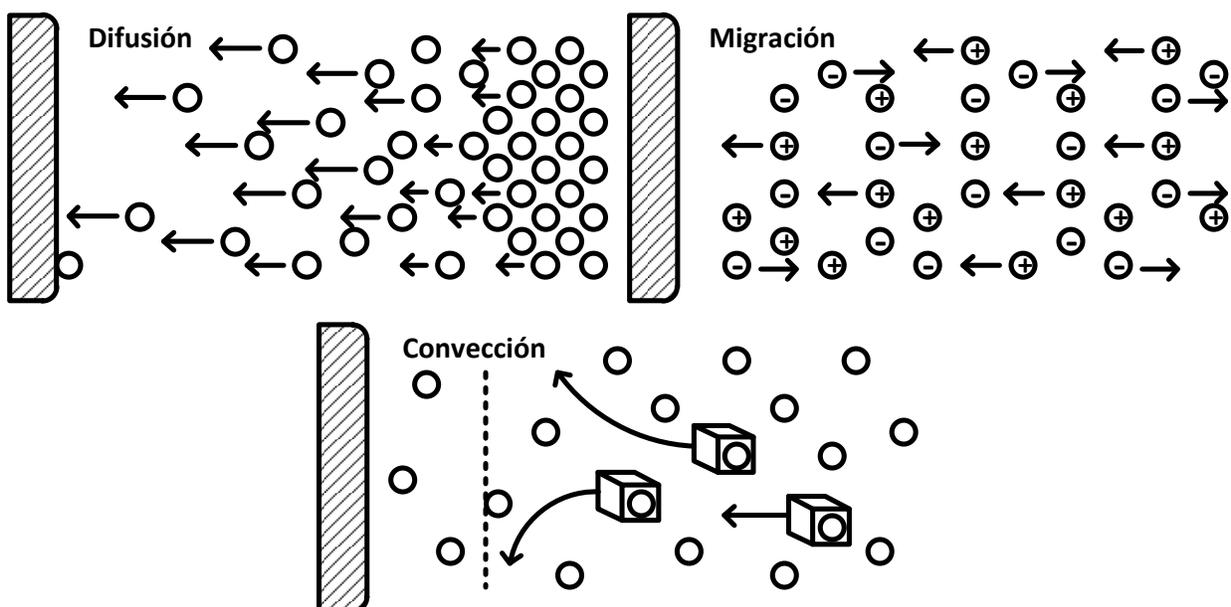


figura 1.9 Representación gráfica de los tres tipos de transferencia de masa.

Sí se considera una parte infinitesimal de la disolución unida por dos puntos, r y s , donde el potencial electroquímico de las especie j no es el mismo para los dos puntos, se genera un gradiente de potencial electroquímico. Esta diferencia en el potencial electroquímico puede deberse a una diferencia en la actividad de las especies j (gradiente de concentración) o puede deberse a una diferencia de ϕ (gradiente de potencial o campo eléctrico). En respuesta a la diferencia de $\bar{\mu}_j$ se genera un flujo de las especies j , por lo que el flujo J_j es proporcional al gradiente de potencial electroquímico $\nabla\bar{\mu}_j$:

$$\text{ecuación 1.20} \quad J_j = -\left(\frac{C_j D_j}{RT}\right) \nabla\bar{\mu}_j \quad \text{ecuación 1.21} \quad \nabla = i \frac{\partial}{\partial x} + j \frac{\partial}{\partial y} + k \frac{\partial}{\partial z}$$

donde el flujo es opuesto a la dirección del gradiente de potencial electroquímico, por lo que se agrega un signo negativo; C_j es la concentración de la especie j , D_j es el coeficiente de difusión de la especie j , T es la temperatura absoluta y R es la constante universal de los gases.

Además del gradiente de potencial electroquímico, si la disolución esta en movimiento, un elemento de la disolución cambia su concentración con una velocidad hidrodinámica v , por lo que se agrega un nuevo término a la ecuación 1.20:

$$\text{ecuación 1.22} \quad J_j = -\left(\frac{C_j D_j}{RT}\right) \nabla\bar{\mu}_j + C_j v$$

El término de potencial electroquímico se puede sustituir en los términos de potencial químico y potencial electrostático ecuación 1.17:

$$\text{ecuación 1.23} \quad J_j = -\left(\frac{C_j D_j}{RT}\right) [\nabla(RT \ln a_j) + \nabla(z_j F \phi)] + C_j v$$

rearrreglando la ecuación anterior obtenemos la ecuación de Nernst Planck, considerando la actividad de la especie j igual a la concentración de la misma:

$$\text{ecuación 1.24} \quad J_j = -D_j \nabla C_j - \frac{z_j F}{RT} D_j C_j \nabla \phi + C_j v$$

donde el primer término corresponde al aporte de difusión y depende de un gradiente de concentración; el segundo término a la migración que depende de un gradiente de potencial electrostático; y el tercer término corresponde a la convección que depende de la velocidad hidrodinámica ³⁵.

La *ecuación 1.24* se puede simplificar al eliminar las contribuciones debidas a la migración y la convección. La contribución por migración se elimina al adicionar un exceso de alguna sal inerte; mientras que el término correspondiente a la migración se elimina al tener una disolución, o se vuelve una constante si se mantiene una agitación constante. De ésta forma el flujo queda definido solamente por la primera ley de Fick, en función del coeficiente de difusión y el gradiente de concentración, *i.e.* difusión pura:

$$\text{ecuación 1.25} \quad J_j = -D_j \nabla C_j$$

Debido a que la corriente eléctrica es proporcional al flujo de materia que llega al electrodo para efectuar la reacción electroquímica, la corriente a medir estará en función de los aportes de difusión, migración y convección *ecuación 1.26*. Además de la contribución faradaica también está la corriente capacitiva, pero ésta no depende de la transferencia de masa.

$$\text{ecuación 1.26} \quad i_{\text{faradaica}} = i_{\text{difusión}} + i_{\text{convección}} + i_{\text{migración iónica}}$$

$$\text{ecuación 1.27} \quad i = -nFAJ$$

donde A es el área del electrodo y n el número de electrones intercambiados. Cuando se tienen las precauciones experimentales necesarias, la corriente medida estará determinada por la difusión de la especie y será proporcional al gradiente de concentración de la especie electroactiva.

$$\text{ecuación 1.28} \quad i = nFAD\nabla C$$

1.3.8 Transferencia de carga

El transporte se da cuando la carga pasa a través de la interfase, la velocidad de transferencia para una reducción *ecuación 1.29* y una oxidación *ecuación 1.30* se muestran enseguida:

$$\text{ecuación 1.29} \quad v_{\text{reducción}} = k^0 e^{-\alpha \frac{nF}{RT}(E-E^0)} C_O^S$$

$$\text{ecuación 1.30} \quad v_{\text{oxidación}} = k^0 e^{(1-\alpha) \frac{nF}{RT}(E-E^0)} C_R^S$$

Donde k^0 es la constante estándar heterogénea de velocidad de transferencia de electrones, α el coeficiente de transferencia de electrones, E el potencial aplicado, E^0 el potencial normal de la especie, C_O^S la concentración del oxidante en la superficie del electrodo, y C_R^S la concentración del reductor en la superficie del electrodo.

Para conocer la corriente total i_{total} , se tienen que tomar las contribuciones de corriente catódica y anódica:

$$\text{ecuación 1.31} \quad i_{\text{total}} = nFAk^0(v_{\text{reducción}} - v_{\text{oxidación}})$$

Substituyendo las *ecuaciones 1.29* y *1.30* en la ecuación anterior obtendremos una relación corriente potencial desde un punto de vista cinético para una reacción de transferencia de n electrones, la ecuación de Eyring:

$$\text{ecuación 1.32} \quad i_{\text{total}} = nFAk^0 \left(C_O e^{-\alpha \frac{nF}{RT}(E-E^0)} - C_R e^{(1-\alpha) \frac{nF}{RT}(E-E^0)} \right)$$

Sí se tienen condiciones de equilibrio la intensidad de corriente total es cero, entonces la velocidad de reducción tendría la misma velocidad que la oxidación, el resultado sería un potencial de equilibrio $E_{\text{equilibrio}}$. Al despejar éste obtenemos la ecuación de Nernst, la cual es sólo válida en condiciones de equilibrio, *i.e.* $i_{\text{total}} = 0$.

$$\text{ecuación 1.33} \quad E_{\text{equilibrio}} = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln \left(\frac{C_O}{C_R} \right)$$

Sí se despeja el potencial normal de la ecuación de Nernst y se substituye en la ecuación de Eyring, se obtiene el término i_0 . Al substituir este término y el de sobretensión η en la ecuación de Eyring, obtenemos la ecuación 1.36.

$$\text{ecuación 1.34} \quad i_0 = nFAk^0(C_O^S)^{1-\alpha}(C_R^S)^\alpha$$

$$\text{ecuación 1.35} \quad \eta = E_{\text{equilibrio}} - E^0$$

$$\text{ecuación 1.36} \quad i = i_0 \left(e^{-\alpha \frac{nF}{RT} \eta} - e^{(1-\alpha) \frac{nF}{RT} \eta} \right)$$

Dicha relación se conoce como la ecuación de Butler Volmer que describe la relación corriente y potencial para reacciones controladas por la velocidad de transferencia de carga.

1.3.9 Electrodo

Como ya se mencionó anteriormente, un sistema electroquímico está formado por un arreglo de dos interfases conductor eléctrico disolución compartamentalizadas; donde las reacciones electroquímicas de óxido reducción de cada semicelda se llevan a cabo en cada electrodo.

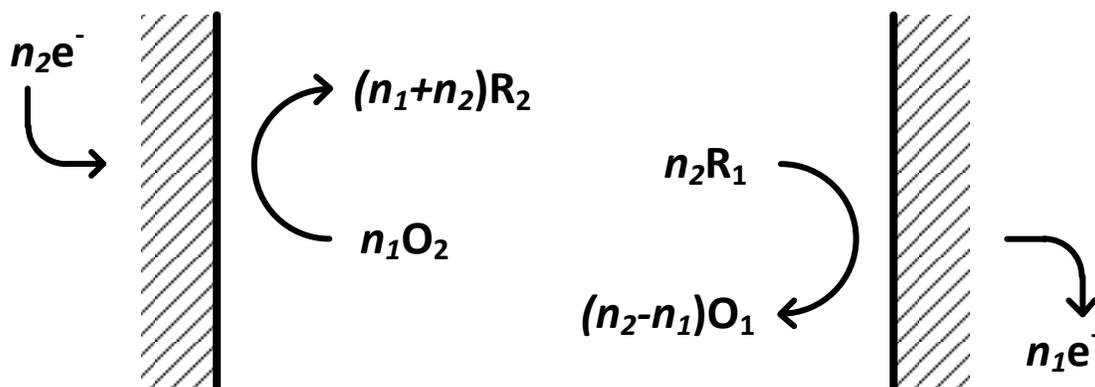


figura 1.10 Representación esquemática de las reacciones de óxido reducción que acontecen al electrodo.

En estos sistemas electroquímicos, por lo general se utilizan tres electrodos para monitorear la reacción electroquímica:

- **Electrodo de trabajo ET**, sirve para la caracterización de las reacciones electroquímicas de interés, donde tiene lugar las mismas.
- **Electrodo de referencia ER**, sirve como punto de referencia para el potencial que se aplica sobre el electrodo de trabajo. Por tal su composición debe ser conocida, su potencial debe ser conocido y constante, además de estar compartimentalizado. Debe de cumplir con ciertas características: reversibilidad, la dirección de la reacción del electrodo puede ser cambiada simplemente cambiando la polaridad del electrodo; reproducibilidad, expresada como la desviación estándar del potencial de celda en mediciones consecutivas de un disolución de una concentración dada; y estabilidad en términos de cómo responde en diferentes ocasiones a un disolución dada.
- **Electrodo auxiliar EA**, sirve para cerrar el circuito eléctrico de la celda, donde tiene lugar la reacción opuesta a la de interés.

1.3.10 Programas de perturbación

En la electroquímica analítica, es necesario provocar una perturbación con el fin de provocar una reacción electroquímica y obtener una respuesta de la cual se puede obtener información que permita caracterizarla. A continuación se exponen las técnicas electroquímicas utilizadas en este trabajo, aunque existen más técnicas no mencionadas *figura 1.16*.

- **Cronoamperometría**, se impone una diferencia de potencial constante y se registra la evolución de la corriente en función del tiempo en RDP. El transporte de masa en éstas condiciones está regido por difusión y el patrón de respuesta (curva intensidad de corriente en función del tiempo) refleja la disminución de la concentración del

analito en las cercanías del electrodo. La medida de la respuesta de la perturbación puede describirse por medio de la ecuación de Cottrell para un electrodo de disco:

$$\text{ecuación 1.37} \quad i(t) = nFAC\sqrt{\frac{D}{\pi t}} = K\sqrt{t}$$

Esta técnica se usa con frecuencia para obtener un registro de la carga Q en función del tiempo, lo cual se obtiene integrando la corriente durante la imposición del potencial. A esto se le conoce como cronocoulombimetría, y se utiliza para medir la cantidad de reactivo adsorbido sobre el electrodo, con la ley de Faraday.

$$\text{ecuación 1.38} \quad Q = \int_{t=0}^{t_e} i(t) dt \quad \text{ecuación 1.39} \quad Q = nFm$$

donde t_e es el tiempo de electrolisis, n el número de electrones intercambiados y m el número de moles de la especie adsorbida³⁹.

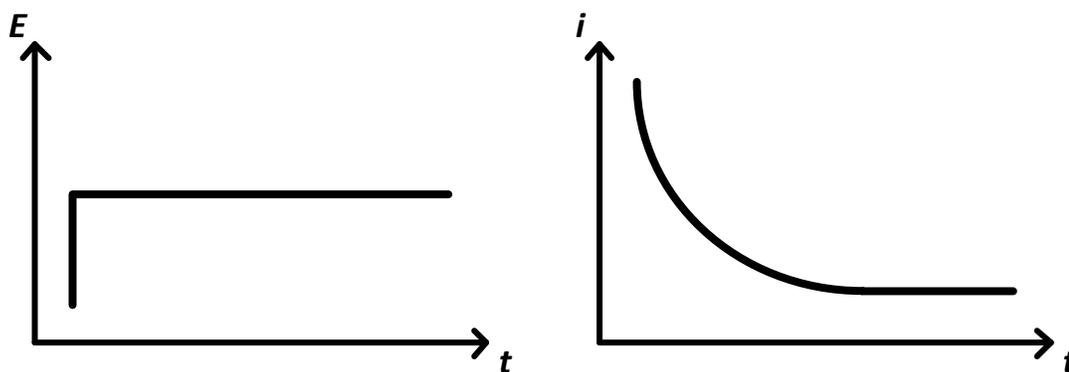


figura 1.11 Programa de perturbación de la cronocoulometría (izquierda) y patrón de respuesta, cronocoulograma (derecha).

- **Voltamperometría cíclica**, es la técnica más utilizada para la obtención de información cualitativa en el estudio de reacciones electroquímicas, su popularidad se debe a la rapidez con la que ofrece información termodinámica de los procesos de óxido reducción, la cinética de la transferencia de electrones en reacciones y las reacciones químicas acopladas o proceso de adsorción.

La voltamperometría cíclica consiste en el barrido lineal de potencial sobre un electrodo de trabajo estacionario en RDP usando un programa de barrido triangular, midiendo la corriente resultante del potencial aplicado. El patrón de respuesta es una curva de intensidad de corriente en función del potencial, llamada voltamperograma.

Dicho barrido va de un potencial inicio E_0 hasta un llamado potencial de inversión E_i ; cuando el potencial de inicio es mayor que el potencial de inversión $E_0 > E_i$ se dice que se tiene un barrido catódico BC, y en el caso contrario un barrido anódico BA.

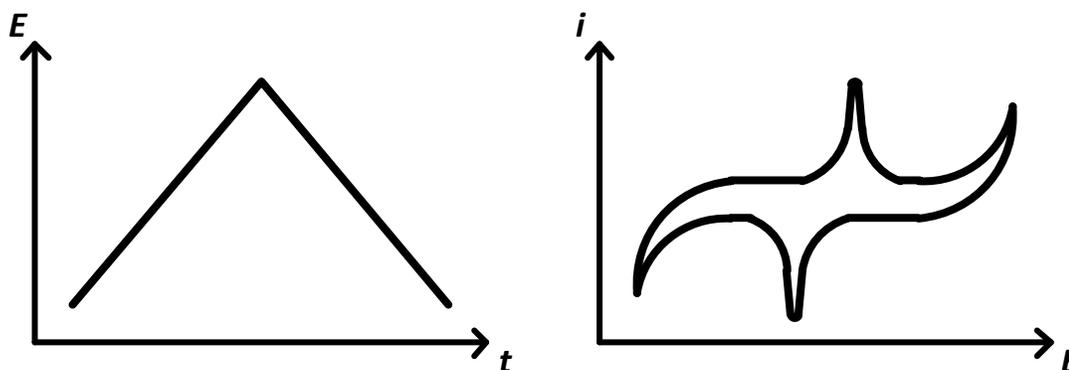


figura 1.12 Programa de perturbación de la voltamperometría cíclica (izquierda) y patrón de respuesta, voltamperograma (derecha).

En la figura 1.13 se muestra el patrón de respuesta esperado para un par óxido reductor reversible en un barrido catódico. Se asume que solamente se encuentra presente la especie oxidada O al inicio, comienza el barrido iniciando en un punto donde no hay reducción E_0 . Mientras el potencial aplicado se aproxima al valor característico E^0 del par óxido reductor, una corriente catódica comienza incrementarse hasta alcanzar un pico catódico E_p^c , después llega al potencial de inversión E_i . Comienza entonces el barrido anódico, y la especie reducida R acumulada cerca de la superficie se oxida para regresar a su forma oxidada O , como resultado tenemos el pico anódico E_p^a y termina el ciclo en el potencial de inicio E_0 .

La semisuma de los valores de potencial catódico y anódico, es el potencial de media onda, una aproximación al valor del potencial normal condicional para un sistema reversible:

$$\text{ecuación 1.40} \quad E^{0'} \cong E_{1/2} = \frac{E_p^c + E_p^a}{2}$$

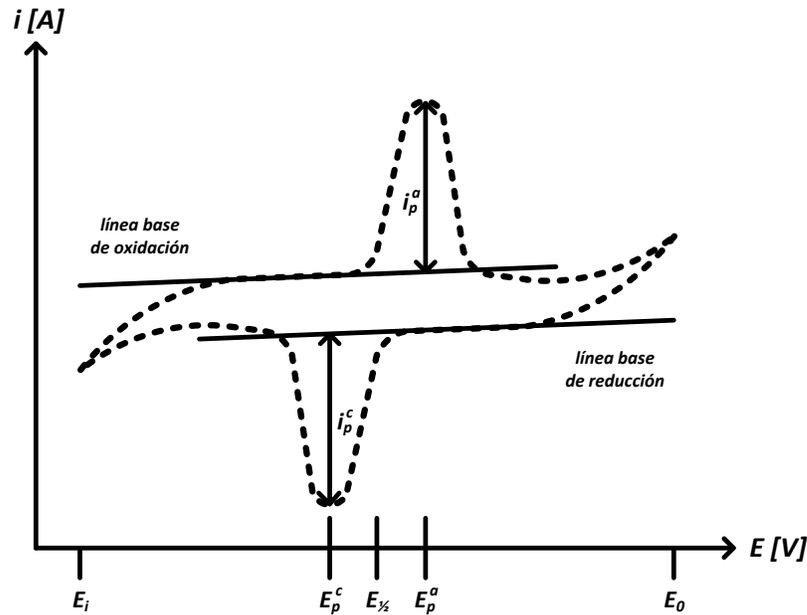


figura 1.13 Parámetros característicos de un voltamperograma cíclico.

Si seguimos considerando un sistema reversible el cociente de las señales de corriente anódica i_p^a y catódica i_p^c debería ser uno. La ecuación de Randles Sevcik establece una proporcionalidad entre el perfil de la corriente del barrido del primer ciclo, concentración y velocidad de barrido:

$$\text{ecuación 1.41} \quad i_p = (2,69 \cdot 10^5) n A C \sqrt{n D v}$$

donde i_p es la intensidad de corriente de pico [A], n es el número de electrones transferidos y v es la velocidad de barrido [V/s]. La voltamperometría cíclica también se puede utilizar con fines cuantitativos, basados en la medición de la corriente de pico y la ecuación de Randles Sevcik³⁴.

- **Voltamperometría diferencial de pulsos VDP**, es una técnica muy útil para la determinación de compuestos a nivel de trazas. Se aplica una serie de pulsos bien definidos mientras se hace un barrido potencial sobre el electrodo de trabajo figura 1.14. La corriente se mide dos veces, antes de aplicar el pulso y después casi al final del pulso (cuando decae la corriente de carga), entonces la primera lectura se resta de la segunda y ésta diferencia de corriente se grafica en función del potencial aplicado. El voltamperograma diferencial de pulsos consiste en picos de corriente, cuya altura es proporcional a la concentración de las especies electroactivas:

$$\text{ecuación 1.42} \quad i_p = nFAC \sqrt{\frac{D}{\pi t_m}} \left(\frac{1-\sigma}{1+\sigma} \right) \quad \text{ecuación 1.43} \quad \sigma = 10 \frac{nF}{RT} \left(\frac{\Delta E}{2} \right)$$

donde ΔE es la amplitud del pulso [V] y t_m el tiempo de muestreo [s]. El potencial de pico E_p se utiliza para identificar a los analitos y el ancho de medio pico $W_{1/2}$ se relaciona con el número de electrones intercambiados:

$$\text{ecuación 1.44} \quad W_{1/2} = \frac{3.52 RT}{nF}$$

Aunque ésta ecuación no funciona para los sistemas irreversibles, que tienden a ensanchar sus picos, perdiendo sensibilidad y resolución. Sin embargo, ésta técnica nos permite realizar la especiación del compuesto a analizar ³⁴.

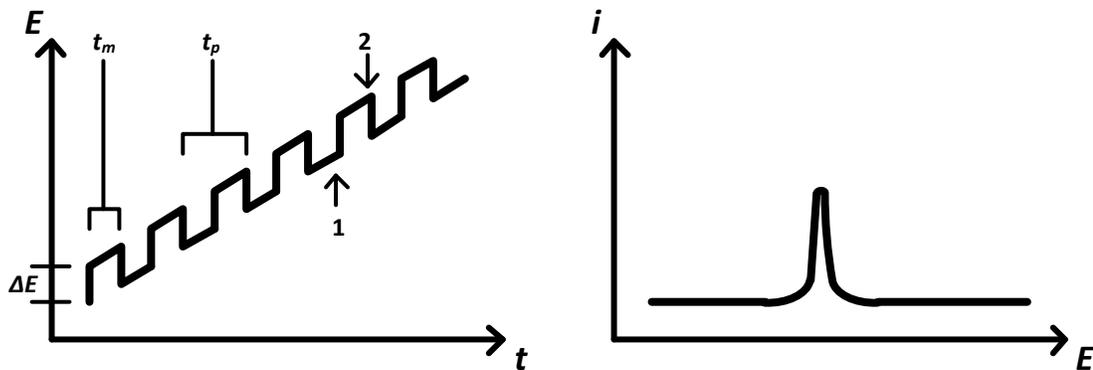


figura 1.14 Programa de perturbación de la voltamperometría diferencial de pulsos (izquierda) y patrón de respuesta (derecha), donde ΔE es la amplitud del pulso, t_m el tiempo de la medición, t_p el tiempo del pulso y los puntos de medición (1 y 2).

- **Análisis por redisolución**, son una de las técnicas electroquímicas más sensibles para la determinación de metales a nivel de trazas. Su sensibilidad radica en la combinación de una etapa de preconcentración con un procedimiento de medición de gran sensibilidad.

El análisis por redisolución básico consta de dos etapas, la primera implica el electrodeposición de una pequeña cantidad de iones metálicos a preconcentrarse sobre el electrodo de trabajo; seguida por la etapa de redisolución, donde se registra la diferencia de potencial e involucra la redisolución del depósito generado en la etapa anterior ³⁴.

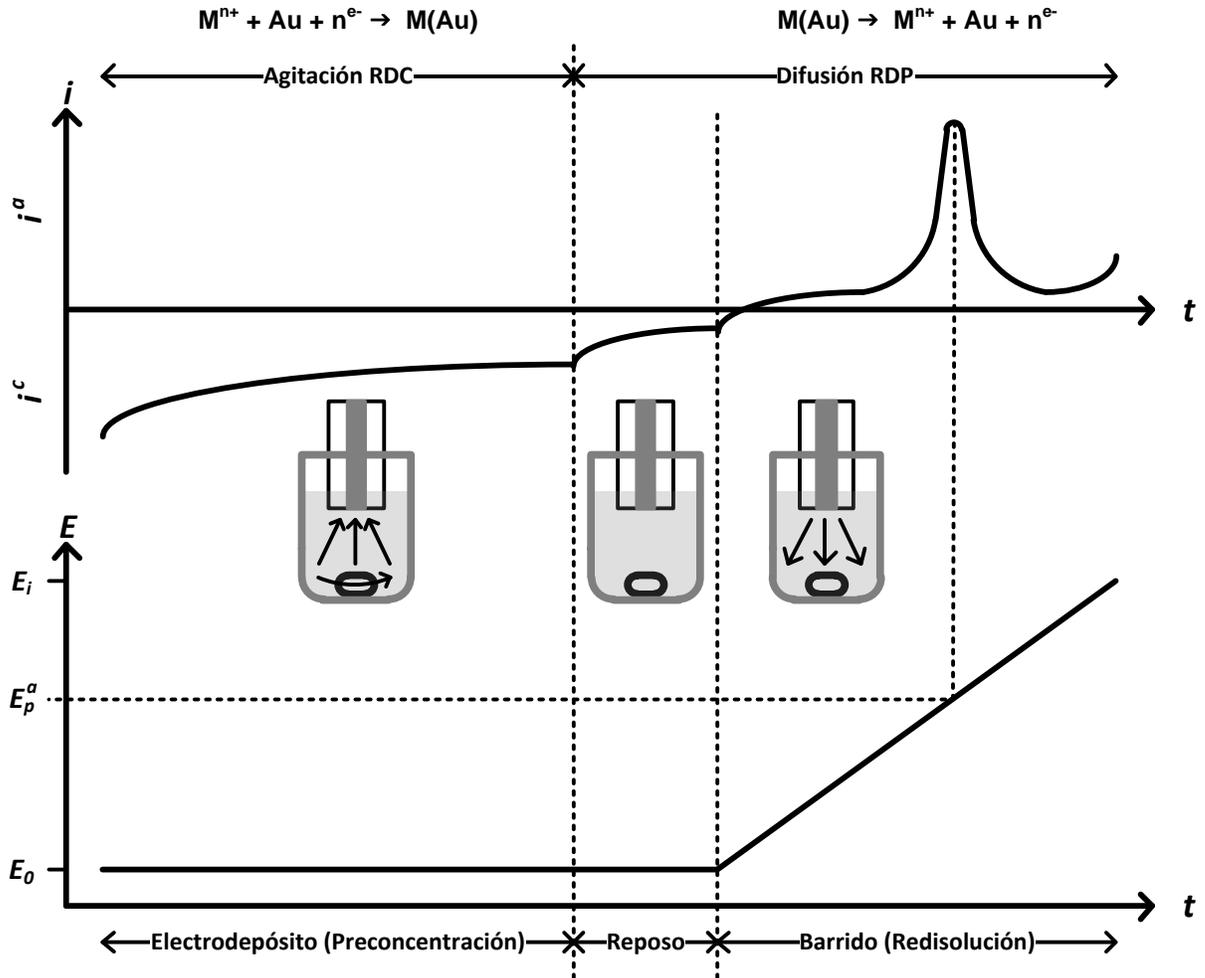


figura 1.15 Programa de perturbación (abajo) y patrón de respuesta (arriba), para un análisis por redisolución anódica con voltamperometría lineal³⁵. Donde se observan las tres etapas: el electrodeposición, una etapa de reposo y el barrido o etapa de redisolución, ésta última se puede cambiar por otra técnica con el fin de aumentar la sensibilidad en el análisis, tal como una técnica de pulsos.

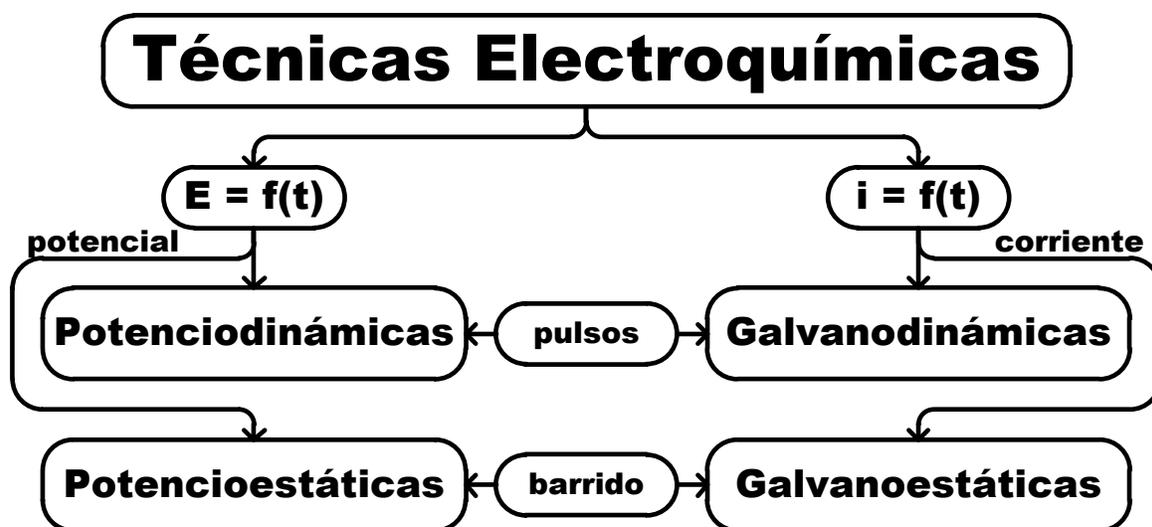


figura 1.16 Clasificación de técnicas electroquímicas de acuerdo al programa de perturbación⁶³, sin embargo existen otras clasificaciones^{39,40}.

Capítulo 2. Cultivo de plantas y modelado de fitorremediación

En este capítulo se discute el cultivo de las plantas, así como el método para simular un sistema de fitorremediación. Se utilizó *Phaseolus vulgaris* (fríjol) como planta modelo, que ha sido ampliamente estudiada en la fitorremediación de compuestos orgánicos peligrosos como son el TNT, PCP, RDX y HMX ²⁸. Como ya se mencionó se conoce su capacidad de acumular mercurio ³², pero poco se ha estudiado como otras plantas.

2.1 Hidroponía

La hidroponía es el cultivo de plantas en soluciones acuosas, por lo general con algún soporte como arena, grava, etc. Ésta con base en el suministro de nutrientes de manera controlada por medio de disoluciones de sales minerales (presentes en el suelo), ya que el agua como tal tan sólo satisface alrededor de 0,1 % de los elementos que una planta necesita, a excepción del oxígeno e hidrógeno ⁴¹. Estas disoluciones nutritivas son uno de los puntos que le da una gran versatilidad a la hidroponía, además de la técnica de riego y el soporte a utilizar, trayendo consigo un sin fin de posibilidades. Por lo que ha sido ampliamente utilizada por los investigadores de la fisiología y nutrición de las plantas.

En 1699 Woodward cultivó yerbabuena en agua de diferentes orígenes, donde agregó un poco de tierra de jardín y observó que había una correlación entre la cantidad de suelo agregado y la masa de las plantas. Entonces concluyó que las plantas estaban constituidas de tierra y no de agua. Años más tarde se probaría que las plantas se constituyen en su mayoría de carbono, oxígeno e hidrógeno, los cuales obtienen a partir del aire y el agua. No obstante el trabajo de Woodward no estaba del todo alejado de la realidad, ya que los elementos que proporciona el suelo, a pesar de estar en pequeñas cantidades, son tan importantes para el desarrollo de la planta como lo son aquellos que forman su tejido.

Fue hasta el siglo XIX que se comenzó a tratar de substituir el suelo en el desarrollo de plantas. Jean Boussingault experimentó con disoluciones nutritivas en diferentes sustratos insolubles y logró probar que se podía substituir el suelo natural por los minerales

que los componen, teoría propuesta por Liebig, pocos años después Salm y Horstmar mejorarían el método propuesto.

Fue en 1860 que Sachs y en 1865 Knop propusieron el cultivo de plantas en disoluciones nutritivas sin sustrato sólido. La técnica consiste en hacer germinar las semillas en un sustrato sólido, luego se trasladan a un soporte a su vez colocado sobre un recipiente con disolución nutritiva, dejando las raíces en contacto con la disolución y el tallo al aire libre *figura 2.1*. Esta técnica sigue siendo utilizada en la actualidad sin mayores modificaciones, a excepción de la disolución nutritiva utilizada.

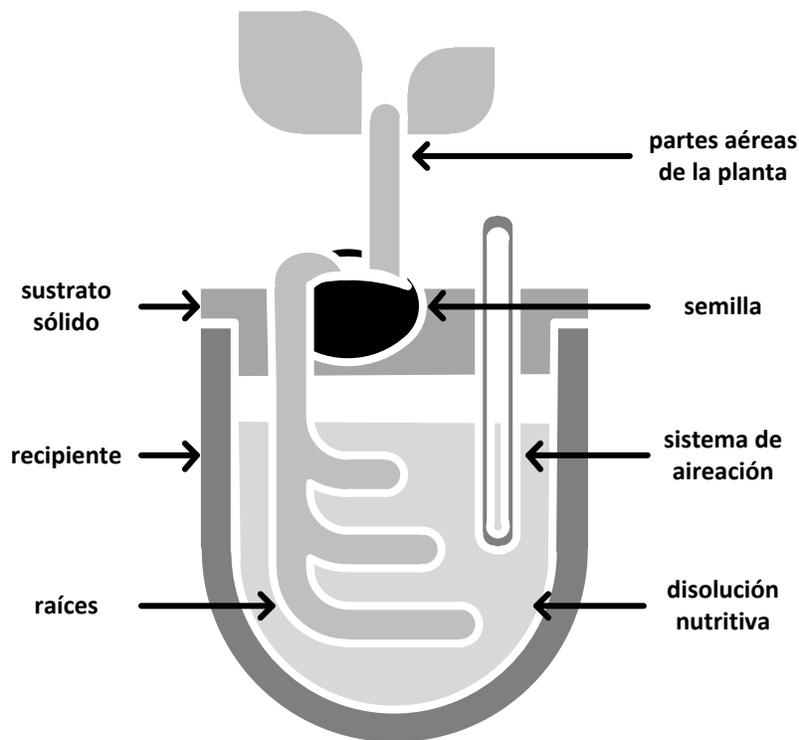


figura 2.1 Sistema de raíz flotante propuesto por Sachs, donde se observa la semilla sostenida en un sustrato sólido, permitiendo que la raíz esté en contacto con la disolución nutritiva y las partes aéreas queden al descubierto.

Entre las disoluciones nutritivas más utilizadas están la de Sachs (1860), Knop (1865), Pfeffer (1900), Crone (1902), entre otras. Estos autores le dan gran importancia a los macronutrientes, aquellos elementos en concentraciones del orden de milimolar, los cuales se consideraban los esenciales para el desarrollo de las plantas. En 1950, Hoagland y Arnon proponen añadir ciertos elementos en concentraciones del orden de micromolar, llamados

micronutrientes, esto en base a los avances hechos en nutrición y fisiología de las plantas. No existe una disolución nutritiva mejor que otra, sino que en algunos casos difiere la concentración de los elementos adecuada para el desarrollo de la planta ⁴².

Los macronutrientes son potasio, calcio, magnesio, nitratos, fosfatos y sulfatos, normalmente combinaciones de los cationes metálicos y los aniones. Los micronutrientes son hierro, boro, manganeso, zinc, cobre y molibdeno, se acostumbra utilizar las sales solubles con los aniones macronutrientes. Además de la disolución nutritiva existen otros parámetros a controlar para el desarrollo óptimo del cultivo, los cuales son característicos de la especie a cultivar, e.g. pH.

La aireación de las raíces es un factor importante, ya que el oxígeno disponible en el suelo es mayor que la cantidad de oxígeno que pudiera estar disuelto en la disolución nutritiva. Por lo que es necesario suministrar oxígeno a las raíces de alguna forma, típicamente con una bomba de aire sumergida en la disolución nutritiva.

2.2 Técnica de cultivo

Sachs propone el sumergir las raíces de la planta en una disolución nutritiva, cumpliendo su función como el órgano encargado de absorber los nutrientes y agua necesarios para el desarrollo de la planta. Sin embargo, las raíces sumergidas en agua no dan el soporte físico necesario para las partes aéreas de la planta. Por lo que se retoma el trabajo de Boussingault, usando un soporte sólido inerte que sea irrigado con la disolución nutritiva. Lo cual nos permite simular de manera más adecuada las condiciones no sólo químicas sino físicas de la planta en el suelo, siendo la materia orgánica presente en el mismo lo que nos aleja de la simulación total.

Existe una gran variedad de soportes sólidos para los cultivos hidropónicos, entre los más comunes están la arena, grava, cenizas, granito, piedra pómez, cascarilla de arroz, entre otros. Se espera que un soporte sólido sea insoluble en agua, inerte y capaz de retener agua, normalmente rocas porosas. Éstas se consiguen prácticamente como se encuentran

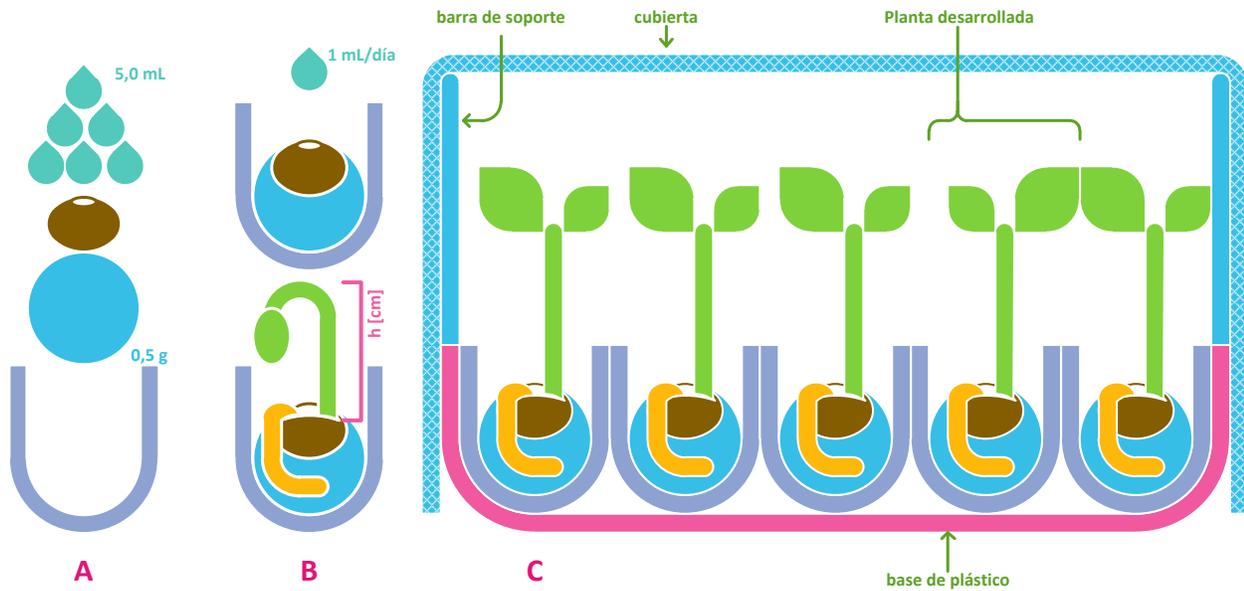
en la naturaleza, por lo que la limpieza de las rocas debe ser exhaustiva para evitar residuos de sales no deseadas. Desde la segunda guerra mundial se ha investigado otros soportes sólidos, como las resinas de intercambio iónico dopadas con nutrientes, geles y polímeros, aunque no son muy recomendables para el cultivo de plantas con fines de comercialización.

Se eligió el algodón como soporte sólido para nuestro cultivo, ya que cumple con las características antes mencionadas. Se utilizó algodón de uso médico, el cual ha pasado por varios procesos de limpieza para su comercialización, permitiéndonos usarlo directamente sin necesidad de algún proceso de limpieza.

El soporte sólido debe estar contenido en un recipiente adecuado, típicamente se hacen camas de diversos materiales recubiertas con una capa impermeable al agua. Se utilizaron recipientes de plástico de 40 mL, pensando que cada semilla será cultivada individualmente para tener un mayor control de la cantidad de disolución nutritiva disponible.

Antes de sembrar las semillas, éstas se lavaron con una disolución al 10 % (v/v) de hipoclorito de sodio y se enjuagaron con abundante agua para retirar cualquier residuo de cloro³⁰.

Para el cultivo se colocaron 0,5 g de algodón en los recipientes de plástico, donde se agregaron 5 mL de la disolución nutritiva y la semilla a germinar. Para proteger las plantas de los insectos, se colocaron los recipientes dentro de un mini invernadero a base de tela de tul. Cada semilla se regó diariamente con 1 mL de la disolución nutritiva hasta el día de corte, procurando hacerlo a la misma hora del día.



figur

a 2.2 esquema del proceso de siembra A y el cultivo B (riego y medición), representación de miniinvernader con cubierta de tul.

2.3 Disolución nutritiva

La disolución de Hoagland y Arnon es una de las más utilizadas para el crecimiento de plantas por hidroponía. Se preparan por separado una serie de disoluciones madre de los macronutrientes de la planta, una disolución de micronutrientes y una disolución de hierro. Las disoluciones se almacenaron por separado, se recomienda en un lugar fresco seco, aunque en nuestro caso fueron almacenadas en refrigeración. Y fué hasta el día de su uso, que se mezclaron las disoluciones madre en una disolución diluida lista para su uso en plantas, como ya se mencionó anteriormente no existe una disolución mejor que otra aún cuando hay tantas combinaciones.

2.3.1 Materiales y reactivos

Espátula y nave para pesar.

Matraces volumétricos de 20,0 mL y 50,0 mL.

Pipeta Beral y pizeta con agua destilada, para llevar a la marca de aforo.

Ácido bórico, H_3BO_3 QP. Reactivo sin marca (identificación: 010400).

Cloruro de manganeso(II) tetrahidratado, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ QP. Reactivo sin marca.

Fosfato monobásico de potasio, KH_2PO_4 RA. Merck (lote: 005472R).

Mercurio metálico, $\text{Hg}_{(l)}$ QP.

Molibdato de hidrógeno como trióxido de molibdeno(VI), H_2MoO_4 (MoO_3 82,5 %) RA. Hopkin & Williams Ltd. (lote: 69046W42807).

Nitrato de calcio tetrahidratado, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ RA. J. T. Baker S. A. de C. V. (lote: A10087).

Nitrato de potasio, KNO_3 QP. Reactivos y Productos Químicos Finos S. A. de C. V. (lote: 9461-R).

Sulfato de cobre(II) pentahidratado, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ QP. Reactivo sin marca.

Sulfato de hierro(II) heptahidratado, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ QP. Reactivo sin marca.

Sulfato de magnesio(II) heptahidratado, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ QP. Reactivo sin marca.

Sulfato de zinc heptahidratado, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ QP. Productos Químicos Monterrey S. A. de C. V.

2.3.2 Preparación de disoluciones

Se prepararon por separado cada una de las disoluciones correspondientes a los macronutrientes, de concentración 1,0 mol/L. Se prepararon dos disoluciones de 50,0 mL cada una, de nitrato de potasio KNO_3 y de nitrato de calcio $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$. También se prepararon dos disoluciones de 20,0 mL cada una, de sulfato de magnesio(II) MgSO_4 y fosfato monobásico de potasio KH_2PO_4 .

La disolución de micronutrientes se preparó agregando la masa correspondiente de cada micronutriente para alcanzar la concentración deseada en la disolución madre. Se prepararon 20,0 mL de una disolución con ácido bórico H_3BO_3 45,3 mmol/L, cloruro de manganeso(II) MnCl_2 9,4 mmol/L, sulfato de zinc ZnSO_4 0,8 mmol/L, sulfato de cobre(II) CuSO_4 0,3 mmol/L y molibdato de hidrógeno H_2MoO_4 0,5 mmol/L. También se prepararon 20,0 mL de una disolución 30 mmol/L de sulfato de hierro(II) FeSO_4 .

Cada una de estas disoluciones se almacenó por separado hasta su uso en refrigeración. Se utilizaron de 100 μL a 500 μL de cada disolución madre para preparar 100 mL de la disolución de Hoagland y Arnon. En la *tabla 2.1* se muestra la masa pesada de cada reactivo para preparar las disoluciones madre, así como la concentración de cada reactivo en la disolución Hoagland y Arnon expresada en por ciento de volumen respecto a la disolución madre respectiva.

Compuesto	C [mol/L]	V _{disoln} [mL]	m _{pesar} [g]	% V _{disoln} H-A
KNO ₃	1,0	50	5,0550	0,5
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	1,0	50	11,8075	0,5
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1,0	20	4,9294	0,2
KH ₂ PO ₄	1,0	20	2,7218	0,1
H ₃ BO ₃	0,0453	20	0,0560	0,1
MnCl ₂ ·4H ₂ O	0,0094		0,0372	
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,0008		0,0046	
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,0003		0,0015	
H ₂ MoO ₄	0,0005		0,0016	
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,03	20	0,1668	0,1

tabla 2.1 Disoluciones base para preparar la disolución de nutrientes Hoagland Arnon, modificada de acuerdo a los reactivos disponibles.

Para el modelado de fitorremediación, se probaron ocho concentraciones: una sin mercurio como testigo y las demás contaminadas con mercurio con un intervalo de concentraciones entre 1,0 mmol/L y 0,001 mmol/L. Para esto se preparó una disolución 0,1 mol/L Hg⁺² (0,5323 g Hg⁰ en 25,0 mL de H₂O, disueltos con HNO₃ concentrado), ésta se utilizó como disolución madre para preparar las disoluciones correspondientes a las concentraciones antes mencionadas.

Las disoluciones con mercurio se prepararon como la disolución de Hoagland y Arnon, sólo que antes de llevar al aforo se agregó la cantidad de mercurio correspondiente a cada disolución. De igual manera se prepararon hasta el día de su uso y se conservaron en refrigeración.

lote	$\log C_{\text{Hg/disoln}}$	$C_{\text{Hg/disoln.}}$ [mmol/L]	$C_{\text{Hg/disoln.}}$ [mg/L]
1	-3,0	1,0	212,92
2	-3,5	0,3	63,876
3	-4,0	0,1	21,292
4	-4,5	0,03	6,388
5	-5,0	0,01	2,129
6	-5,5	0,003	0,639
7	-6,0	0,001	0,213
8	~	0	0

tabla 2.2 Concentración de mercurio(II) en las disoluciones nutritivas utilizadas para la simulación de muestras de fitorremediación.

2.4 Lote piloto

Una vez que se tiene la disolución de nutrientes necesaria, se procede a la siembra de las plantas, en este caso frijol (*Phaseolus Vulgaris*). Se utilizaron semillas comerciales de frijol negro, *Empacadora la Merced, S. A. de C. V.*, lavadas con la disolución al 10 % de hipoclorito de sodio. Se evaluaron dos variables para encontrar las mejores condiciones de crecimiento posibles en el laboratorio. Se evaluó el tipo de iluminación, planta expuesta directamente a la luz o planta en sombra con luz indirecta. También se evaluó la luz sobre las raíces, en este caso el tipo de recipiente ámbar o transparente, en ambos casos fueron recipientes de vidrio de 9 mL.

Se colocaron las semillas sobre 0,2 g de algodón previamente humedecido con la disolución de Hoagland y Arnon, se regaron por 20 días para observar su desarrollo. Se utilizó la altura de la planta como parámetro de crecimiento, a sabiendas de que la masa pudo haber sido una mejor elección. Esto último implicaría retirar las raíces del algodón, enjuagar y secar para poder pesar, lo cual exigiría demasiado tiempo, además de que el exponer las raíces todos los días podría reflejarse en algún cambio perjudicial para la planta.

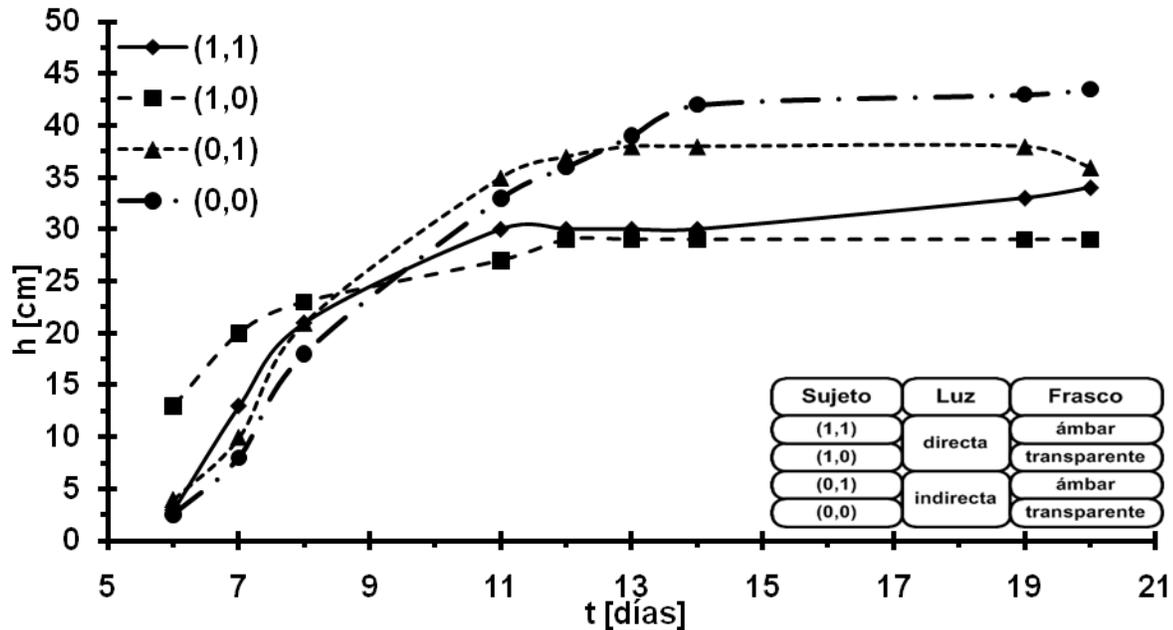


gráfico 2.1 Curvas de crecimiento de las plantas del lote piloto.

El tiempo de germinación de la semilla de frijol es aproximadamente cinco días en un clima cálido ⁴³, nuestro lote piloto germinó a los seis días. A los doce días en promedio alcanzó los 32 cm de altura y disminuyó su velocidad de crecimiento gráfico 2.1. De éste experimento se pudo concluir que con luz indirecta y frascos transparentes se obtiene el mejor desarrollo de la planta en el laboratorio. Esto a pesar de que la planta se cultiva con luz directa, y que la raíz esta enterrada, pero no es de sorprendernos, ya que la luz indirecta evita el contacto directo de la luz en las raíces y el frasco transparente no tendría porque dar mejor resultado que el ámbar.

2.5 Simulación de fitorremediación

Como ya se mencionó, las plantas pueden ser usadas como un medio de limpieza de suelos contaminados, pues se ha encontrado que algunas especies vegetales favorecen algunos procesos de degradación, extracción y estabilización de metales pesados en el ambiente ¹⁶. Con base en esto se ensayaron las plantas de frijol como sujetos de prueba para la extracción de mercurio(II) en condiciones controladas.

Ya que se cuenta con la disolución de nutrientes, las mejores condiciones de cultivo en el laboratorio y la técnica de cultivo, podemos comenzar a simular un sistema de fitorremediación. Durante la primera etapa se ensayó una serie de disoluciones nutritivas con diferentes concentraciones de mercurio para determinar la tolerancia de *Phaseolus vulgaris*. En la *tabla 2.2* se muestran la concentración de mercurio en la disolución nutritiva y la cantidad de mercurio acumulado a los 15 días de cultivo.

lote	C_{Hg}/disoln. [mmol/L]	C_{Hg}/disoln. [mg/L]	n_{Hg}/acumulado en 15días [mg/kg]
1	1,0	212,92	850,955
2	0,3	63,876	255,439
3	0,1	21,292	85,161
4	0,03	6,388	25,550
5	0,01	2,129	8,517
6	0,003	0,639	2,555
7	0,001	0,213	0,852
8	0	0	0

tabla 2.3 concentración de mercurio(II) agregado a través de la disolución nutritiva y acumulado en el sustrato hasta le día del corte (15 días), como parámetro de contaminación simulada.

Se siguió la misma técnica de cultivo y de riego diario por 15 días después de sembradas, donde se monitoreó la altura de las plantas como parámetro de crecimiento. Se sembraron ocho lotes diferentes, con diez semillas cada uno, de los cuales uno de ellos fué el lote testigo (sin mercurio).

A partir del primer día el algodón de algunas plantas presentó una coloración purpura, posiblemente debida a los pigmentos fenólicos naturales de la semilla. La mayoría germinó entre el quinto y sexto día, como reporta la literatura. En general, las plantas de todos los lotes crecieron con excepción del lote con mayor concentración de mercurio (lote 1), del cual no germinó ninguna semilla. La población se comportó como se esperaba, los individuos de los lotes con mayor concentración de mercurio germinaron en menor medida que aquellos con menor cantidad de mercurio.

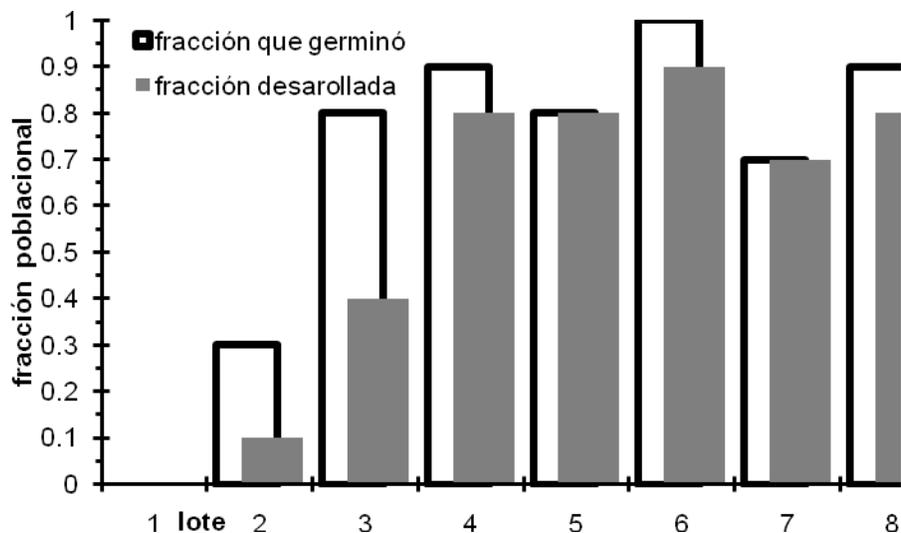


gráfico 2.2 Fracción Poblacional de individuos germinados en comparación con los desarrollados a los 15 días.

El desarrollo de las plantas en promedio es muy parecido entre los lotes germinados, sin tomar en cuenta la fracción poblacional de individuos que se desarrollaron. La altura se mantuvo alrededor de un mismo valor para las plantas desarrolladas $34,4 \pm 3,7$ cm, lo que puede indicar que el mercurio afecta de manera más marcada la germinación que la altura de las plantas.

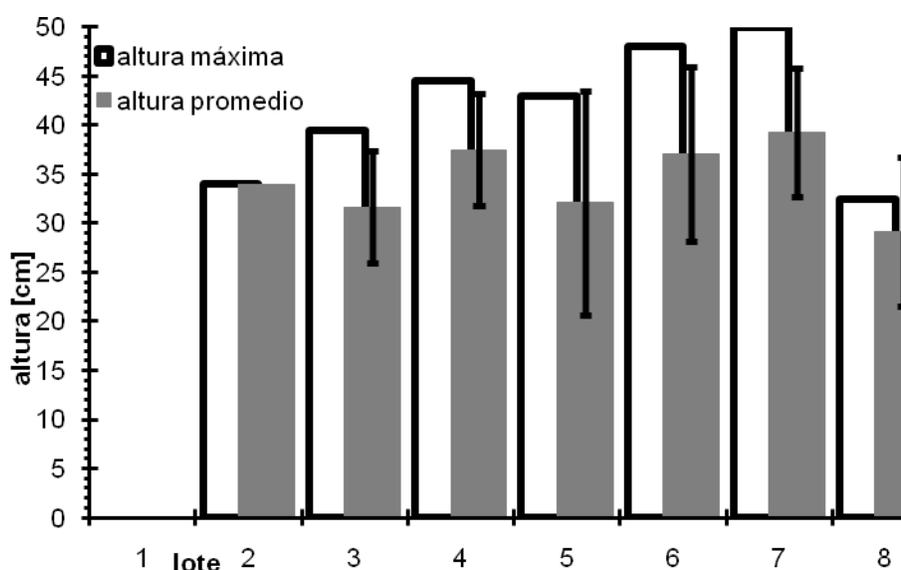


figura 2.3 Comparación de la altura alcanzada por los individuos desarrollados de cada lote a los 15 días.

Es notable que el crecimiento de las plantas contaminadas con mercurio(II) respecto al lote testigo, posiblemente debido a una estimulación en la producción de fitoalexinas ⁴⁴. A pesar de esto, se marca una tendencia, que a menor concentración de mercurio mayor la altura alcanzada.

A los 15 días se recolectaron las plantas para su análisis. Para esto se usaron frascos secos previamente pesados, donde se colocaron las plantas cortadas desde el tallo, la raíz se dejó en el sustrato. De otro modo se estaría comprometido el análisis, ya que el algodón por sí solo puede retener mercurio y al tratarlo como planta no tendríamos un valor verdadero de la cantidad de mercurio absorbido por la planta. Aunque al dejar la raíz fuera del análisis, éste se convierte en el monitoreo del mercurio metabolizado por la planta sin el mercurio acumulado en la raíz. Los frascos se guardaron en refrigeración para su secado previo al tratamiento de la muestra.

Capítulo 3. Tratamiento de la muestra

El tratamiento de la muestra es una etapa crucial, ya que no siempre corremos con la suerte de tener una muestra que se pueda analizar directamente. Esto depende de la técnica analítica y del analito en cuestión. En nuestro caso tenemos biomasa presumiblemente con mercurio, siendo éste el analito, a analizarse por vía electroquímica. Al no poder introducir la planta directamente en la celda electroquímica y a falta de un sensor para determinar mercurio en la planta, se tiene que digerir la muestra para poder analizarla.

El mercurio es un analito difícil de tratar, ya que a diferencia de otros metales su punto de ebullición se encuentra por debajo de los 400 °C, no muy difíciles de alcanzar en un laboratorio. Además de que desconocemos la ruta metabólica del mercurio(II) en *Phaseolus vulgaris*, corremos el riesgo de la formación de especies orgánicas del mercurio como dimetilmercurio o dietilmercurio, cuyos puntos de ebullición se encuentran por debajo de los 200 °C. Siendo todas éstas especies tóxicas, por lo que al diseñar el tratamiento de la muestra no sólo se tiene que pensar en el mercurio sino también en sus derivados.

3.1 Secado de las plantas

Antes de probar la digestión de las plantas, estas se llevaron a un proceso de secado previo. En la literatura la determinación de metales pesados en biomasa y en plantas en específico, se hacen respecto a la masa seca. Esto debido a que gran parte de la masa de la planta consta de agua, por lo que se tiene que retirar dicho exceso variable para obtener datos más confiables.

Se realizaron varios ensayos con lechugas previos al trabajo con las muestras sintéticas de fitorremediación. Se probaron diversas formas de secado previo, además del secado en refrigerador se intentó un secado en estufa, polvos de acetona y secado asistido por microondas.

3.1.1 Secado en estufa

El primer ensayo se realizó en una estufa a una temperatura de 105 °C. Se colocó una lechuga cortada en trozos dentro de un recipiente refractario, y se dejó secando dentro de la estufa por 9 horas. Al cabo de éste tiempo se retiró de la estufa, ya que el secado no fue homogéneo, mientras había partes húmedas otras habían llegado a calcinarse. Se decidió abandonar esta opción.

3.1.2 Polvos de acetona

Una opción al secado en estufa es el uso de polvos de acetona, una técnica más compleja que consiste en congelar y secar la muestra bajando la temperatura súbitamente. Esto se hace con una mezcla de acetona y hielo (1:1) con cloruro de sodio, cuya temperatura es aproximadamente -15 °C. Una vez que se tiene la mezcla se filtra al vacío para terminar de secar.

Se pesaron 5 g de lechuga picada y se mezclaron con 10 mL de una mezcla de acetona y hielo con cloruro de sodio. Se agitó por 2 minutos hasta tener una mezcla homogénea, así se filtró al vacío y se realizaron tres lavados con la misma mezcla de acetona y hielo. La masa final fue del 13,9 % de la masa inicial, lo cual corresponde a lo esperado, teniendo en cuenta que las plantas se constituyen en un 90 % de agua.

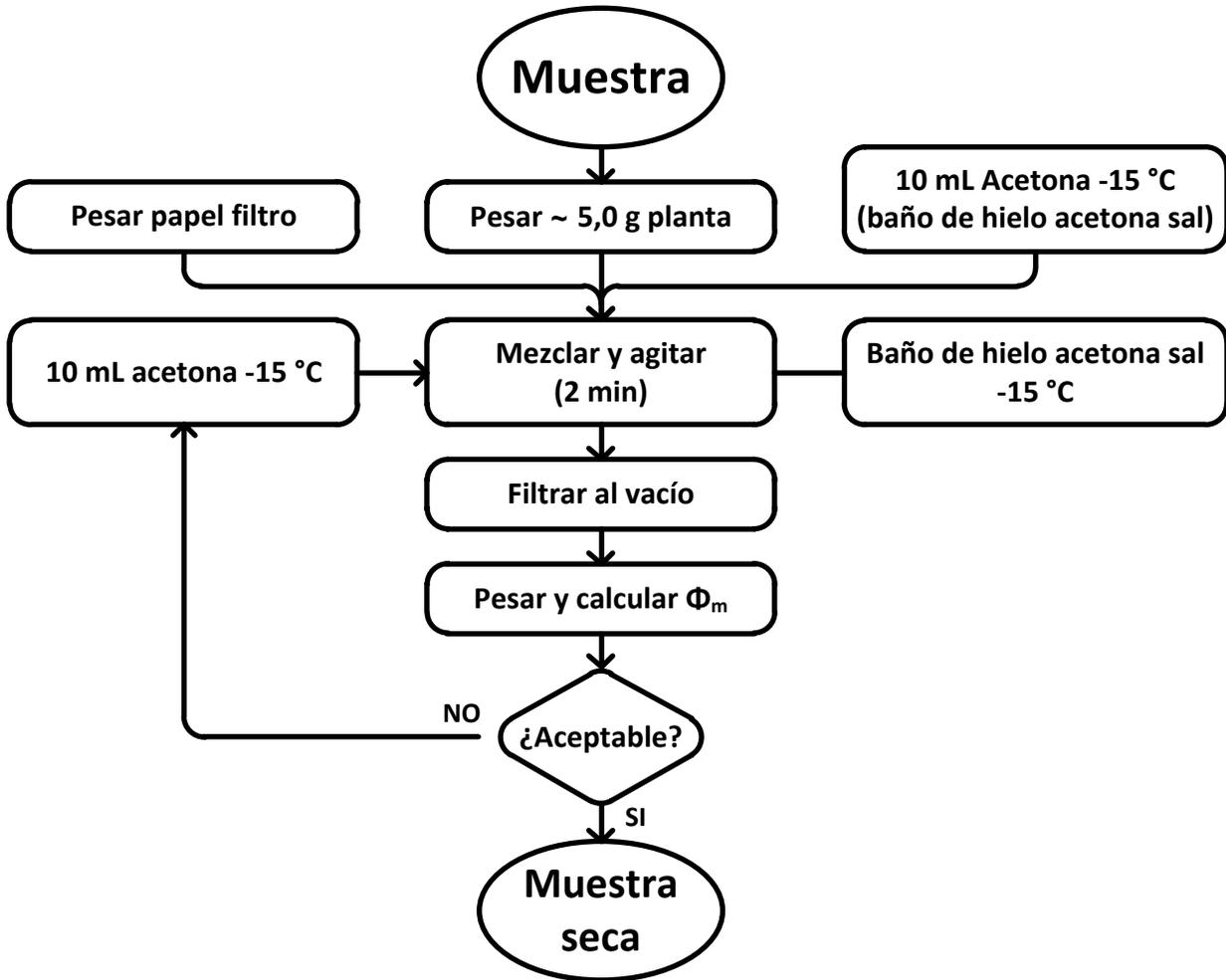


figura 3.1 Diagrama de flujo operativo para el secado por la técnica de polvos de acetona.

3.1.3 Secado asistido por microondas

Ya que el secado en estufa fue lento y no se logró un secado homogéneo, se pensó en utilizar un horno microondas comercial para el secado de las plantas. Pensado en tener un secado más rápido y homogéneo. El horno de microondas casero utilizado para este experimento, no cuenta con ninguna adaptación. Al igual que en los casos anteriores se probó primero con lechuga fresca para determinar la cantidad de agua perdida en el proceso.

En un vaso de precipitados de 50 mL se pesaron 4 g de lechuga fresca cortada en pedacitos, el recipiente se colocó dentro del horno de microondas por 15 minutos en total. Esto se hizo en varios intervalos de tiempo entre los cuales se dejaba un tiempo para que se enfriara y pudiera pesarse el vaso. En el *gráfico 3.1* se muestra la evolución en el tiempo del parámetro Φ , la fracción de masa, obtenido dividiendo la masa al tiempo t (m_t) entre la masa inicial (m_0). Observamos que se pierde más de la mitad del peso en los primeros tres minutos, y que después de los siete minutos la pérdida es cada vez menor hasta llegar a un estado estacionario correspondiente a la masa de la lechuga seca.

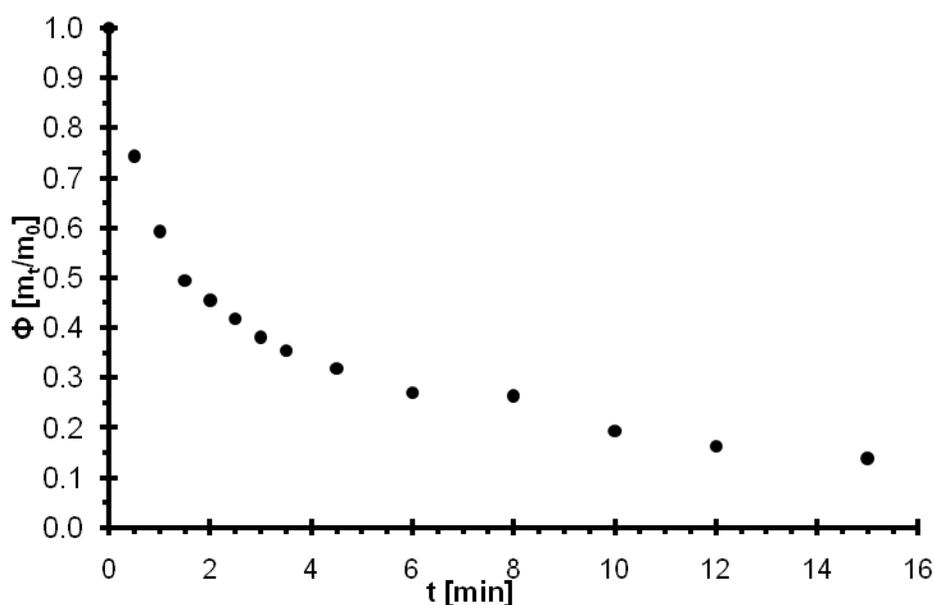


gráfico 3.1 Perfil de pérdida de agua por secado en microondas para una muestra biológica (4 g de lechuga fresca), donde la fracción de masa Φ_m se obtiene dividiendo la masa al tiempo t en microondas entre la masa inicial.

El peso final corresponde al 14 % de la masa inicial de lechuga húmeda, muy similar a lo obtenido con los polvos de acetona con la ventaja de ser un método más rápido y accesible. Por lo cual se decidió utilizar el secado asistido por microondas para los experimentos posteriores.

3.2 Digestión de las plantas

La gran mayoría de las muestras biológicas (orina, plantas, pescado, cabello, etc.) se pueden descomponer por calcinación, típicamente seguida de un tratamiento con ácidos para recuperar el analito ⁴⁵. Como ya se mencionó la calcinación no es una opción debido a los bajos puntos de ebullición del mercurio y sus derivados. Por lo que se propone una digestión por vía húmeda ⁴⁶, la cual consiste en disolver las muestras con mezclas de ácidos concentrados ayudados de un poco de calentamiento.

En la literatura se han encontrado diferentes métodos para la digestión por vía húmeda, una opción muy popular es la digestión con ácidos asistida por microondas. Para llevar a cabo esta digestión se introduce la muestra en un vial de teflón con un poco de ácido concentrado y se lleva a un microondas especial para la digestión de muestras. Aunque éste es el método más socorrido existen otros métodos, más rudimentarios, pero igual de efectivos.

Se puede digerir la materia orgánica en un sistema de reflujo con ácido nítrico concentrado, esto de acuerdo a la norma oficial mexicana para la determinación de mercurio en alimentos ⁴⁷, a nuestro juicio la más cercana a las condiciones de trabajo, aunque el análisis ahí mencionado sea por absorción atómica. A continuación se describe el proceso de digestión utilizado.

Se tomó 1 g la muestra en un tubo de ensaye con tapa de rosca, se le agregaban 5 mL de ácido nítrico concentrado (para análisis de trazas). Al mismo tiempo se preparó un blanco con la misma cantidad de ácido nítrico concentrado, éste blanco tenía el mismo tratamiento que la muestra. Se tapó el tubo sin cerrar por completo (para evitar que la presión interna lo haga estallar) y se calentó por 30 minutos en un baño de arena a una temperatura de 150 °C.

Al cabo de la media hora se revisó el tubo para ver los cambios en la coloración, de no estar digerida la muestra se agregaban 10 mL de una mezcla 1:1 de ácido nítrico y ácido sulfúrico, ambos concentrados. Se tapaba de nuevo el tubo y se dejaba otra media hora a

reaccionar, de no digerirse se repetía este paso hasta obtener un color traslucido en la disolución.

Una vez digerida la muestra se retiraba del baño de arena, se agregaba un poco de ácido perclórico 0,1 mol/L y se dejaba enfriar por 5 min. El ácido perclórico agregado es el medio más usado para la determinación de mercurio por vía electroquímica ⁴⁸, pensando que nuestra muestra será analizada por esta técnica.

Una vez alcanzada la temperatura ambiente, se trasvasaba a un matraz volumétrico de 10,0 mL y se llevaba al aforo con la disolución de ácido perclórico 0,1 mol/L previamente preparada.

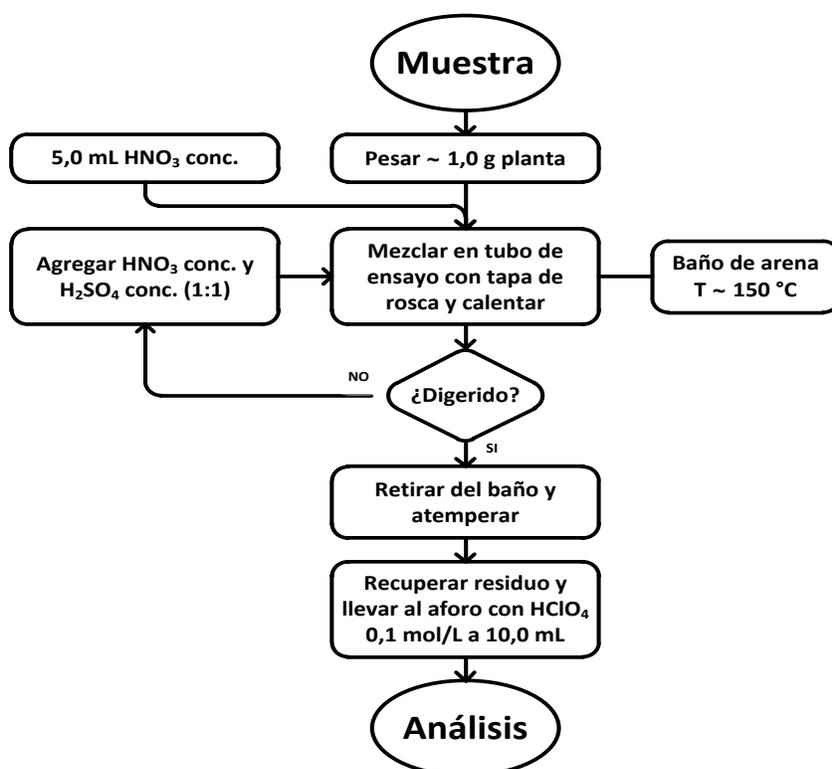


figura 3.2 Diagrama de flujo operativo para la digestión de muestras por vía húmeda, con mezcla de ácidos concentrados y recuperación en medio para análisis futuro.

3.3 Tratamiento para muestras simuladas de fitorremediación

Como ya se mencionó, después de cortar las plantas, estas guardan en recipientes abiertos para su secado en refrigeración. Antes de analizarse se aplica el tratamiento que decidimos sería el adecuado para las muestras simuladas de fitorremediación. De acuerdo a los ensayos la mejor forma para el secado de las plantas fue el secado asistido por microondas. Donde se dejaron por 7 minutos y se tuvieron en promedio 12 ± 5 % de la masa húmeda al final del tratamiento de secado *gráfico 3.2*. A diferencia de la altura máxima o la fracción de individuos germinados, la masa recolectada parece tener relación con la cantidad de mercurio presente. Se puede observar una clara tendencia a que la cantidad de masa recolectada aumenta conforme disminuye la cantidad de mercurio presente. Estos datos corresponden a los lotes 2 al 8, ya que ningún individuo del lote 1 germinó.

Una vez secas las plantas, se llevaron a los tubos de digestión siguiendo los pasos descritos en la sección anterior. La digestión de las muestras nos llevó más de tres días, a diferencia de los ensayos con lechuga donde la digestión tardaba 6 horas en promedio, por lo que se decidió cambiar los tubos de ensaye por vasos de precipitados de 50 mL tapados con vidrios de reloj.

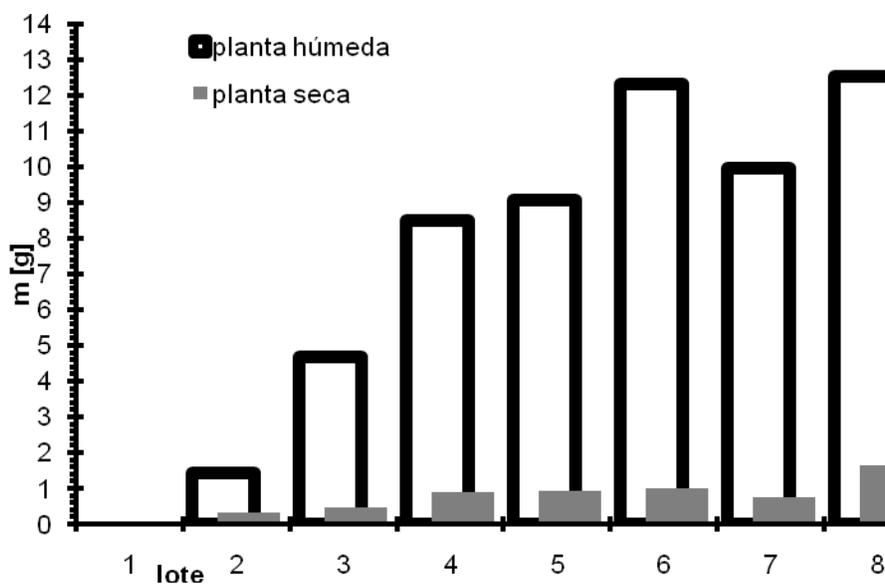


Gráfico 3.2 Comparación de la masa húmeda y la masa seca de cada lote cultivado.

lote	$m_{\text{biomasa seca}}$ [g]	Φ biomasa seca/húmeda
1	~	~
2	0,3393	0,24
3	0,4730	0,101
4	0,8867	0,104
5	0,9348	0,103
6	1,0171	0,082
7	0,7570	0,076
8	1,6528	0,132

tabla 3.1 Valores experimentales de biomasa seca y la fracción de biomasa remanente después del proceso de secado.

Capítulo 4. Determinación electroquímica de mercurio

El mercurio es un metal tóxico altamente volátil, y por su movilidad uno de los contaminantes que más amenazan la salud humana ⁴⁹, en éste trabajo se busca el modelado de un sistema para recuperarlo. Para su determinación se utilizaron los métodos electroquímicos, a pesar de que las normas nacionales e internacionales tienden a utilizar la espectrometría de absorción atómica ^{47,50}. Dicha técnica ha cobrado fama debido a la sensibilidad, e.g. la espectrometría de fluorescencia atómica de vapor frío de mercurio que tiene un límite de detección de 1,8 ppt y un límite de cuantificación de 5,0 ppt.

Los métodos electroquímicos tienen límites de detección por arriba de los obtenidos por espectrometría de absorción atómica, pero cuentan con una ventaja muy importante, que es la posibilidad de especiar los metales. Las técnicas de alta energía determinan la cantidad total del elemento en cuestión, mientras que las técnicas electroquímicas permiten obtener diferentes señales para el mismo elemento pero en diferente estado, lo cual permite la especiación de los elementos.

Entre los métodos electroquímicos, la voltamperometría de redisolución ya sea anódica o catódica ha sido una de las más socorridas para la determinación de metales a nivel de trazas. Andrews, Larochelle y Johnson determinaron trazas de mercurio(II) en ácido perclórico 0,1 mol/L sobre un electrodo de oro por VDPRA con un límite de detección cerca de 0,02 ppb ⁵¹. Aunque se han logrado límites de detección cercanos a 0,02 ppt por esta técnica ⁵², el mercurio es muy complicado de determinar sobre electrodos de oro.

La dificultad para la determinación radica en la deposición del metal en diferentes estados presentados diversas interacciones con el electrodo, como resultado se tienen múltiples señales para un solo analito, complicando el análisis. Es muy conocida la solubilidad del mercurio en el oro, por lo que es comprensible que se tengan pocos registros de la determinación de mercurio(II) usando electrodos de oro por VRA. Se ha probado que cuando se tiene mercurio absorbido sobre un electrodo de oro, éste queda presente después de la limpieza del electrodo ⁵³.

Si aún se desea trabajar con un electrodo de oro, es imprescindible hacerlo en concentraciones bajas, con una combinación de limpieza mecánica y electroquímica para

asegurar la reproducibilidad, sensibilidad y precisión de la determinación ⁵⁴. Han surgido otras opciones para la determinación de mercurio con electrodos compuestos, los cuales todavía tienen límites de detección altos (0,01 a 3 ppb) ^{55,56,57,58,59}.

4.1 Equipo e instrumentación

Se utilizaron dos potenciostatos, el primero es un potenciostato galvanostato modelo PGP201 (Radiometer-Copenhagen) conectado a una computadora y controlado con el programa VoltaMaster v1.0 (Radiometer Analytical S. A.). El segundo un potenciostato modelo 626 Polarecord (Metrohm-Binkmann), que cuenta con un graficador integrado y los registros se digitalizaron el programa FindGraph v1.860 (UNIPHIZ Lab).

Se utilizaron tres electrodos de trabajo, un electrodo de disco giratorio modelo 628 RDE (Metrohm) con puntas intercambiables de oro y carbón vítreo, ambos electrodos de disco de 3 mm de diámetro. Además de un electrodo de disco de grafito de 7,5 mm de diámetro, construido en el laboratorio. Se usaron barras de grafito de 2 mm de diámetro como electrodos auxiliares y un electrodo de plata cloruro de plata ($\text{Ag}^0|\text{AgCl}_{(s)}|\text{KCl sat.}|$) construido en el laboratorio.

El electrodo de referencia consta de un alambre de plata recubierto de cloruro de plata, esto por electrodeposición en una disolución 0,1 mol/L de ácido clorhídrico. Luego este alambre se llevó a un capilar de vidrio de tamaño conveniente, en el cual un extremo selló con un poco de cinta de teflón dejando 1,0 cm de alambre expuesto. En ese mismo extremo se colocó una punta de pipeta automática (10 μL), en cuya punta se puso un pedazo de algodón bien compactado y se agregó una disolución cloruro de potasio saturado, evitando la presencia de burbujas en el compartimiento.

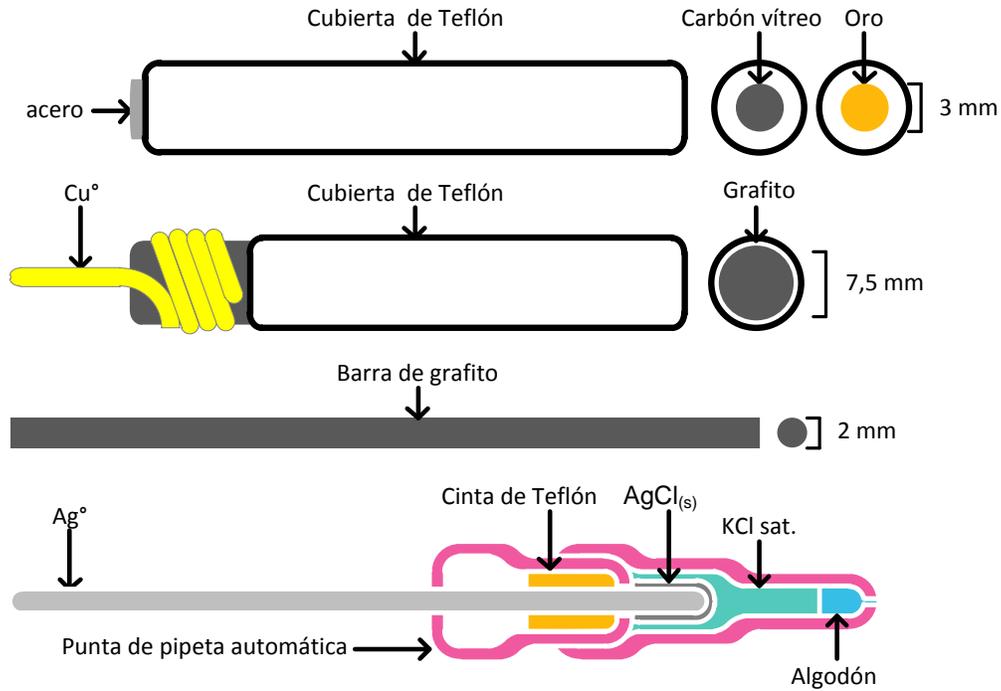


figura 4.1 Colección de electrodos utilizados, los primeros dos (de arriba hacia abajo) como electrodos de trabajo, el tercero como electrodo auxiliar y el último como electrodo de referencia.

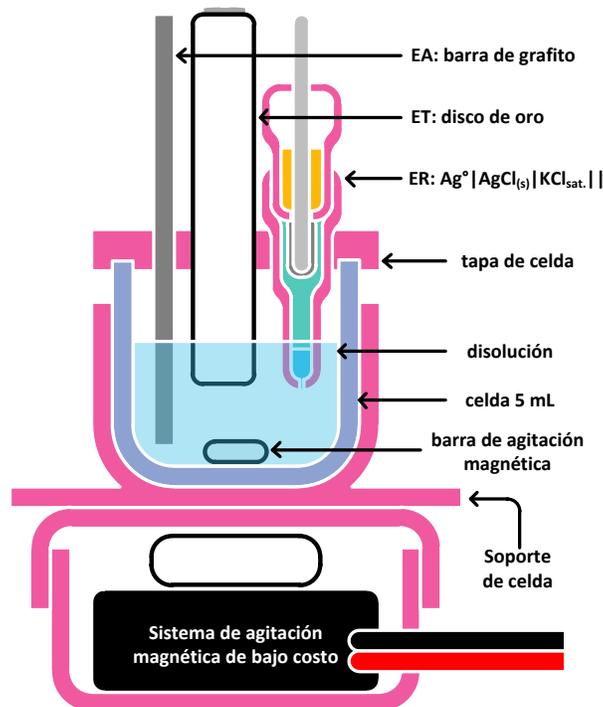


figura 4.2 Representación gráfica del montaje de celda utilizado para la determinación de mercurio(II).

Para las determinaciones se utilizaron celdas de vidrio de 5 mL permitiendo un espacio para un a barra de agitación magnética. La celda descansaba sobre un agitador magnético de bajo costo construido en el laboratorio. Para sostener los electrodos se adaptaron unas tapas de plástico con los orificios necesarios para cada electrodo.

4.2 Determinación con electrodo de carbón vítreo

Primero se ensayó con el electrodo de carbón vítreo para ver la posibilidad de sustituir el electrodo de oro en el análisis, y así poder evitar el problema de la solubilidad del mercurio en el oro. Se construyeron las curvas de calibración para este electrodo por VCBC y VRA, utilizando el potencióstato modelo PGP201 (Radiometer-Copenhagen).

Se realizó una curva de calibración por adiciones estándar sobre el electrodo de carbón vítreo en una disolución 0,1 mol/L de ácido perclórico por VCBC *gráfico 4.1*. Se colocaron 5 mL de ácido perclórico en una celda de 15 mL, con un electrodo de trabajo de disco de carbón vítreo ($D = 3$ mm), una barra de grafito ($D = 2$ mm) como electrodo auxiliar y un electrodo de referencia de plata cloruro de plata ($\text{Ag}^0|\text{AgCl}_{(s)}|\text{KCl}_{\text{sat.}}||$).

Se hizo un barrido catódico de 1000 mV a -300 mV, con una velocidad de barrido de 500 mV/min y un sólo ciclo. Una vez que se tuvo el blanco, se hicieron cinco adiciones estándar de 10 μL de una disolución 0,1 mol/L de Hg^{2+} .

El pico de oxidación aparece bien definido alrededor de 450 mV, a diferencia del pico de reducción alrededor de 310 mV, que se asemeja a una onda. Esto tal vez debido a un efecto de nucleación en el depósito de mercurio. Es evidente que el pico de oxidación responde de mejor forma al aumento de la concentración, casi tres veces más que los picos de reducción.

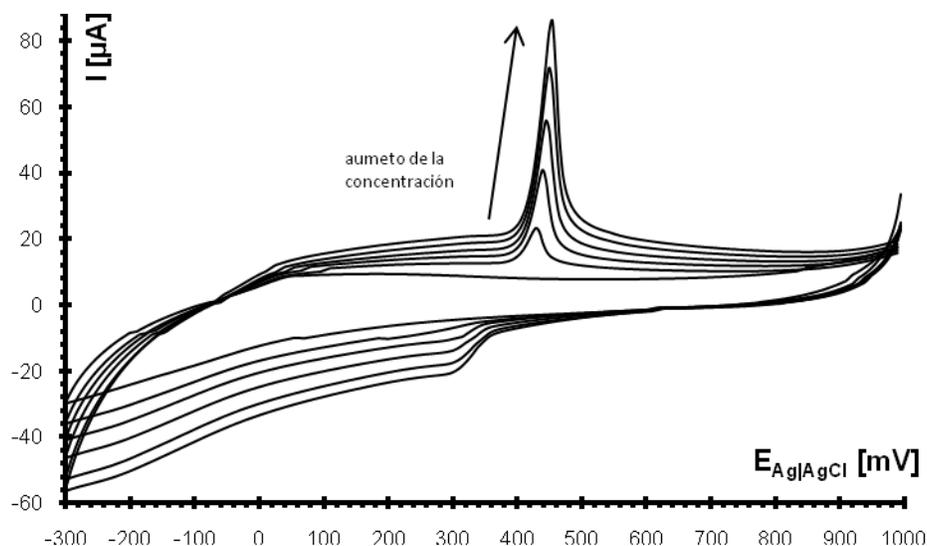


gráfico 4.1 Voltamperogramas de una curva de calibración de mercurio(II) por VCBC con un electrodo de carbón vítreo en HClO_4 0,1 mol/L ($V_0= 5\text{mL}$), usando el método de adiciones estándar ($10 \mu\text{L Hg}^{2+}$ 0,1 mol/L). Con Valores de 0, 40, 60, 80, 120 y 160 ppm respectivamente.

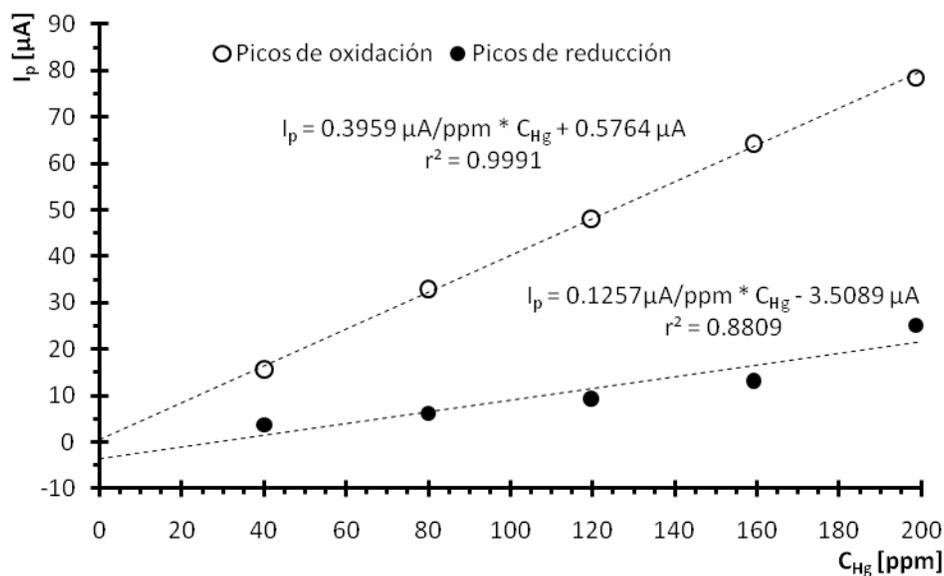


gráfico 4.2 Comparación de los valores de corriente de pico, para la señal de reducción y oxidación, medidos del gráfico 4.1.

Se uso el mismo programa de perturbación, pero en la muestra se considera el efecto de matriz, para lo cual se agregaron 1 mL de residuo del blanco de digestión a los 5 mL de ácido perclórico. Una vez que se tuvo el blanco con matriz, se hicieron cinco adiciones estándar de 10 μL de una disolución 0,1 mol/L de Hg^{2+} . Se observa como se ensancha el dominio y las señales de reducción desaparecen, tan solo dejando a la vista las señales de oxidación *gráfico 4.3*.

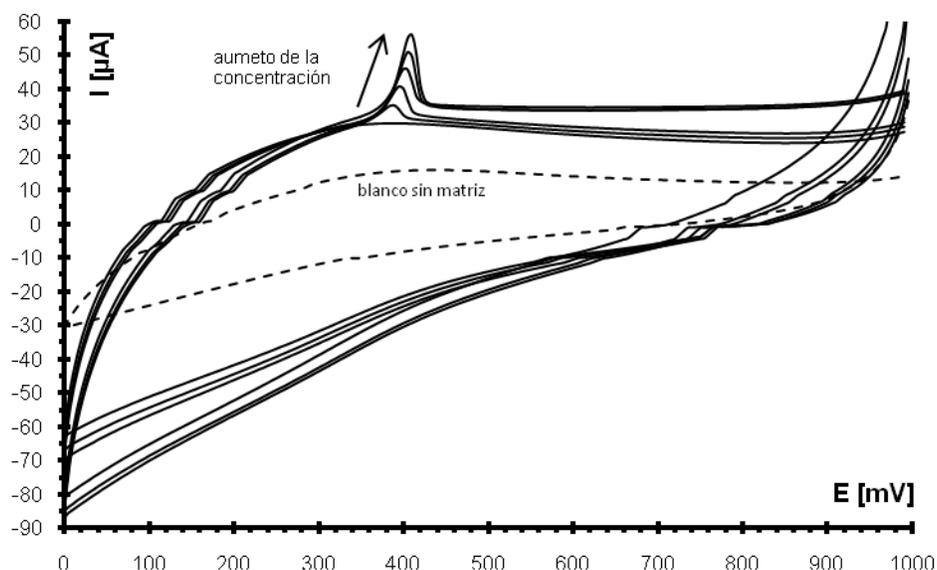


gráfico 4.3 Voltamperogramas de una curva de calibración de mercurio(II) por VCBC con un electrodo de carbón vítreo en ácido perclórico 0,1 mol/L ($V_0 = 5\text{mL}$) y residuo de digestión (1 mL), usando el método de adiciones estándar (10 μL Hg^{2+} 0,1 mol/L). Con Valores de 0, 33, 67, 100, 133 y 166 ppm respectivamente con matriz.

El factor de respuesta de la corriente del pico de oxidación, se reduce a la mitad en comparación con la curva sin el efecto de matriz *gráfico 4.1*. La curva se realizó por triplicado para observar la reproducibilidad de los resultados.

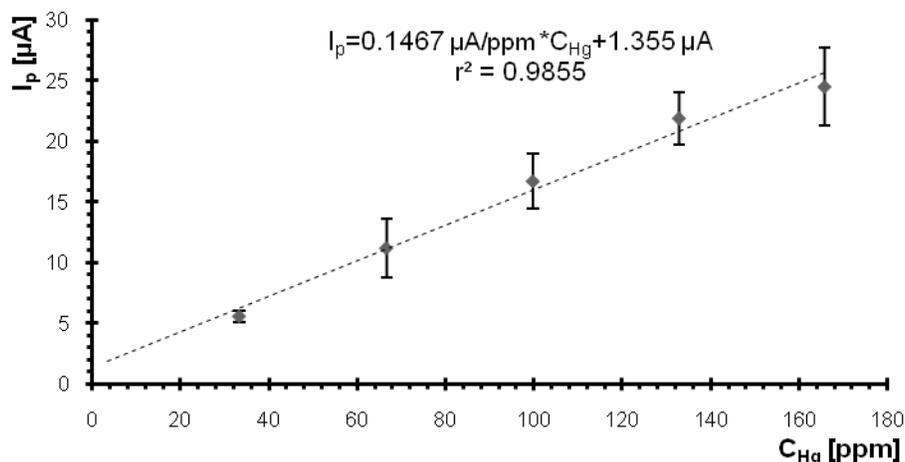


gráfico 4.4 Curva de calibración I_p en función de la concentración de mercurio(II) por VCBC con un electrodo de carbón vítreo en ácido perclórico 0,1 mol/L ($V_0 = 5\text{mL}$) y residuo de digestión (1 mL), usando el método de adiciones estándar (10 μL Hg^{2+} 0,1 mol/L).

Se hizo la determinación de los límites de detección y cuantificación ⁶⁰ en condiciones reales, en el Anexo 2 se muestra a detalle el cálculo. Esto es con el efecto de matriz, para el análisis de mercurio en ácido perclórico 0,1 mol/L sobre un electrodo de carbón vítreo por medio de adiciones estándar con VCBC. El límite de detección calculado fué de 22 ppm con un límite de cuantificación de 73 ppm. Estos valores son relativamente altos, si consideramos los límites de detección posibles por vía electroquímica, estamos muy por arriba de los valores reportados.

Para aumentar la sensibilidad se intentó hacer VRA sobre el electrodo de carbón vítreo. Como ya se mencionó antes las VRA consta de tres etapas, el electrodeposición, la redisolución y la limpieza electroquímica. Siendo la etapa del electrodeposición y la técnica para la redisolución los que nos dan mayor o menor sensibilidad en el análisis.

Se hizo una serie de experimentos para determinar el tiempo de electrodeposición. Se probaron cuatro tiempos de electrodeposición 5, 10, 15 y 20 minutos, con una agitación constante de 1000 rpm durante el electrodeposición en potencial reductor constante (-300 mV). Se dejaron 30 s de estabilización después del electrodeposición, y se hacía un barrido anódico de -300 mV a 1000 mV, a una velocidad de 500 mV/min. La etapa de limpieza electroquímica consistía en imponer un potencial oxidante (800 mV) durante 30 s.

En una celda de 15 mL se colocaron 5 mL de ácido perclórico 0,1 mol/L y se trazó un blanco. Entonces se agregaron 50 μL de una disolución 1 mmol/L de Hg^{2+} , para obtener una concentración de 2 ppm en la celda. Se repitió el programa de perturbación antes descrito, sólo cambiando el tiempo de electrodepósito, resultando que a mayor tiempo de electrodepósito mayor corriente de pico *gráfico 4.5*.

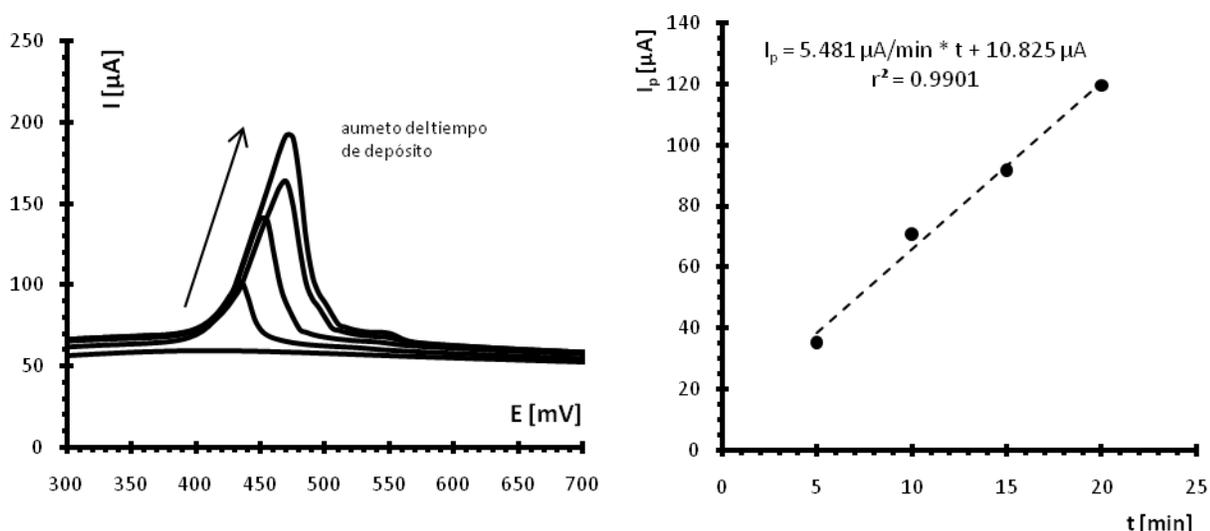


gráfico 4.5 Respuesta de corriente de pico en función del tiempo de depósito sobre el electrodo de carbón vítreo, izquierda voltamperogramas y derecha corriente de pico anódica en función del tiempo de depósito.

Una vez que conocemos la relación del tiempo de electrodepósito con la corriente de pico, podemos fijar un tiempo de electrodepósito para los experimentos posteriores. Se eligió un tiempo de 15 minutos, ya que buscamos concentraciones muy bajas, el mayor tiempo nos permitiría hacer mejores determinaciones, aunque no escogimos un tiempo mayor, porque el análisis se haría muy largo y poco práctico.

Se hizo una curva de calibración con adiciones estándar por VRA, utilizando el programa de perturbación anterior y un tiempo de electrodepósito de 15 minutos. En una celda de 15 mL se colocaron 5 mL de ácido perclórico 0,1 mol/L, se trazó un blanco y se hicieron siete adiciones estándar de 10 μL de una disolución 1,0 mmol/L de Hg^{2+} .

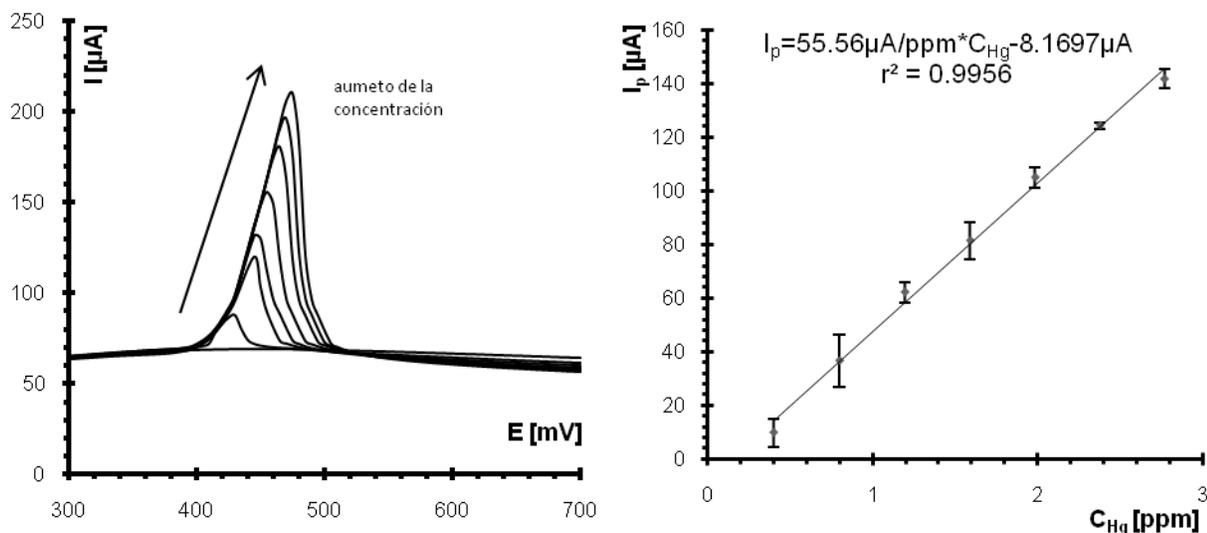


gráfico 4.6 Voltamperogramas (izquierda) y corrientes de pico de oxidación (derecha) de una curva de calibración de mercurio(II) por VRA con un electrodo de carbón vítreo en HClO_4 0,1 mol/L ($V_0 = 5\text{mL}$), usando el método de adiciones estándar ($10 \mu\text{L Hg}^{2+}$ 1,0 mmol/L), teniendo un intervalo de concentración de 0 a 2,80 ppm.

El experimento se hizo por triplicado, como se observa en el gráfico 4.6 la dispersión de los datos es un poco mayor a la dispersión obtenida para VCBC. Sin embargo, los límites de detección y cuantificación disminuyeron considerablemente, dos ordenes de magnitud. El límite de detección para VRA sobre el electrodo de carbón vítreo es de 0,19 ppm y el límite de cuantificación es de 0,62 ppm. A pesar de tener buenos resultados, para la determinación de metales a nivel de trazas esperamos bajar aún más los límites de detección y cuantificación, por lo que se intentará la voltamperometría diferencial de pulsos para aumentar la sensibilidad de nuestra determinación.

Se ensayó el electrodo de trabajo de carbón vítreo con la voltamperometría diferencial de pulsos, pero no hubo una respuesta proporcional a la concentración, por lo que la siguiente etapa será usar el electrodo de trabajo de oro.

4.3 Determinación con electrodo de oro

Para los experimentos con el electrodo de oro se utilizó el potenciostato modelo 626 Polarecord (Metrohm-Brinkmann), los mismos electrodos de referencia y auxiliar. El programa de perturbación será VRA al igual que para el electrodo de carbón vítreo, tan sólo cambia la técnica de detección a VDP.

Se utilizó una celda de 15 mL, un electrodo de trabajo de disco de oro ($D = 3 \text{ mm}$), una barra de grafito ($D = 2 \text{ mm}$) como electrodo auxiliar y un electrodo de referencia de plata cloruro de plata ($\text{Ag}^0|\text{AgCl}_{(s)}|\text{KCl}_{\text{sat.}}||$).

El programa de perturbación utilizado fue el siguiente. En la etapa de electrodeposición se impuso un potencial reductor (-300 mV) constante por 15 minutos, con una agitación constante (agitador casero alimentado con 3 V) y 10 s para estabilización antes del barrido. La etapa de redisolución se hizo un barrido anódico de -300 mV a 1000 mV por VDP, con una velocidad de barrido de 5 mV/s , con pulsos de 50 mV y un tiempo de muestreo de $0,5 \text{ s}$. La etapa de limpieza se hizo imponiendo un potencial de 900 mV por 1 minuto con agitación constante.

Se colocaron 5 mL de ácido perclórico $0,1 \text{ mol/L}$ en la celda para trazar el blanco, se hicieron adiciones estándar de $10 \mu\text{L}$ de una disolución $0,1 \text{ mmol/L}$ de Hg^{2+} . Primero se hicieron siete adiciones, pero a partir de la quinta adición la tendencia de los datos comenzaba a variar, por tal sólo se continuó con cuatro adiciones por triplicado. Se observa en el *gráfico 4.7* que la dispersión de los valores es muy grande a partir de la tercera adición, por lo que se optó por hacer la curva de nuevo, pero con el estándar diluido.

Cabe señalar que entre cada curva de calibración y al terminar de usar el equipo, el electrodo de oro se limpia mecánicamente. Esto se hace puliendo con alúmina en polvo ($5 \mu\text{m}$), hasta llevar a superficie de espejo, además después se traza un blanco para comprobar que no aparezca ninguna señal. De ser así se aplica una limpieza electroquímica por 15 minutos y se repite el proceso de limpieza mecánica.

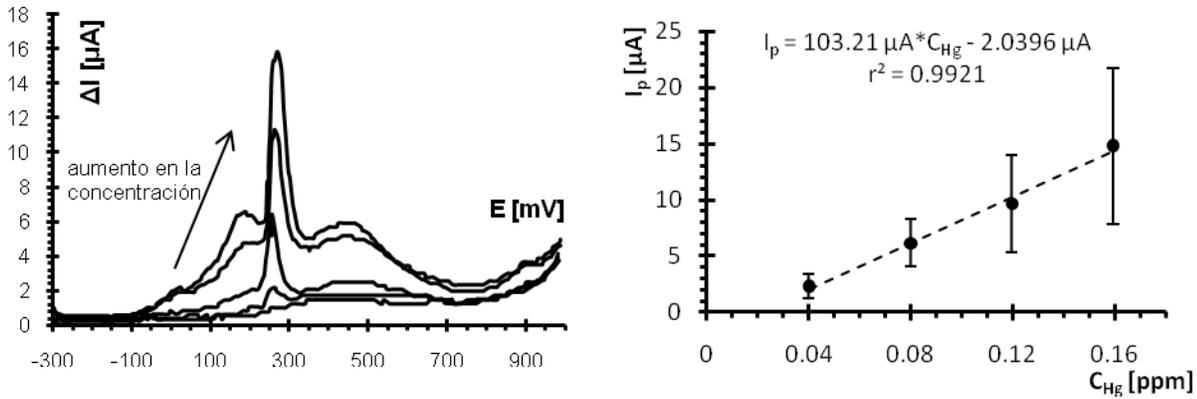


gráfico 4.7 Voltamperogramas de una curva de calibración de mercurio(II) por VDPRA con un electrodo de oro en ácido perclórico 0,1 mol/L ($V_0 = 5mL$), usando el método de adiciones estándar ($10 \mu L Hg^{2+}$ 0,1 mmol/L). Con Valores de 0,00, 0,04, 0,08, 0,12 y 0,16 ppm respectivamente.

Al realizar de nuevo la curva de calibración por VDPRA sobre el electrodo de oro se utilizó el mismo programa de perturbación y las mismas condiciones de trabajo. Se colocaron 5 mL de ácido perclórico 0,1 mol/L en la celda para trazar el blanco, se hicieron adiciones estándar de $10 \mu L$ de una disolución 0,01 mmol/L de Hg^{2+} .

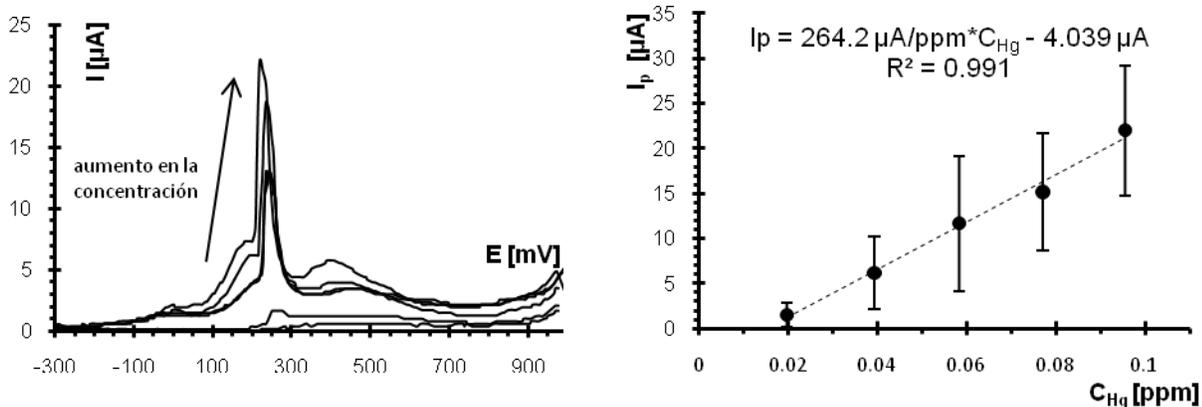


gráfico 4.8 Voltamperogramas de una curva de calibración de mercurio(II) por VDPRA con un electrodo de oro en ácido perclórico 0,1 mol/L ($V_0 = 5mL$), usando el método de adiciones estándar ($50 \mu L Hg^{2+}$ 0,01 mmol/L). Con Valores de 0,00, 0,02, 0,04, 0,06, 0,08 y 0,10 ppm respectivamente.

Se observa la evolución de más de una señal, y aparentemente todas crecen al adicionar mercurio, pero la señal que tomamos en cuenta fué el pico ben definido que aparece alrededor de 250 mV. A diferencia de los experimentos realizados sobre carbón

vítreo ahora tenemos más de una señal en el registro, esto se debe a la formación de amalgamas de mercurio en el electrodo.

Obtuvimos una evidencia de la formación de amalgamas, cuando utilizamos el mismo electrodo por varias horas sin limpiar, después de aplicar una limpieza mecánica, se seguían observando señales de mercurio en el blanco. Éste comportamiento no se observó con el electrodo de carbón vítreo, ya que la solubilidad del mercurio en oro es significativa a diferencia de la solubilidad en carbón vítreo, que se considera cero ⁶¹.

Con los datos obtenidos y en el segundo experimento, se calcularon los límites de detección y determinación de mercurio en ácido perclórico 0,1 mol/L por VDPRA sobre un electrodo de oro. El límite de detección fue de 0,01 ppm y el límite de cuantificación de 0,04 ppm, hubo una mejora de un orden de magnitud con respecto a la determinación en carbón vítreo por VRA.

4.4 Muestras simuladas de fitorremediación

Para la determinación de mercurio en las muestras simuladas de fitorremediación, se utilizó el electrodo de oro, ya que se tiene un menor límite de detección y la cantidad de metal esperada en las muestras es del nivel de trazas. Las muestras simuladas siguieron el pretatamiento mencionado en el capítulo anterior.

Antes del análisis, las muestras se secaron en un horno de microondas por 7 minutos, luego se digirieron con ácido nítrico concentrado y adiciones de una mezcla 1:1 de ácido nítrico y sulfúrico concentrados. El residuo de digestión se llevó a un volumen final de 10,0 mL con ácido perclórico 0,1 mol/L, entonces se tomaron alícuotas de esta disolución para la determinación de mercurio.

Las primeras muestras en analizar fueron los lotes 2, 3 y 8, suponiendo que la concentración de mercurio esperada en los dos primeros lotes sería mayor. El análisis se hizo con el potencióstato modelo 626 Polarecord (Metrohm-Brinkmann), en una celda de

vidrio de 5 mL, un electrodo de trabajo de disco de oro ($D = 3$ mm), una barra de grafito ($D = 2$ mm) como electrodo auxiliar y un electrodo de referencia de plata cloruro de plata ($\text{Ag}^0|\text{AgCl}_{(s)}|\text{KCl}_{\text{sat.}}||$). El cambio en el volumen de la celda se debió a que el volumen de muestra disponible era de 10 mL, por lo que necesitábamos reducir el volumen de la alícuota a tomar.

El análisis se hizo por VDPRA con el siguiente programa de perturbación. En la etapa de electrodeposición se impuso un potencial reductor (-300 mV) por 15 minutos, con una agitación constante (agitador casero alimentado con 3 V) y 10 s para estabilización antes del barrido. Para la redisolución se hizo un barrido anódico de -300 mV a 1000 mV por VDP, con una velocidad de barrido de 5 mV/s, con pulsos de 50 mV y un tiempo de muestreo de 0,5 s. La etapa de limpieza se hizo imponiendo un potencial de 900 mV por 1 minuto con agitación constante.

En la celda se colocaron 2 mL de ácido perclórico 0,1 mol/L y se trazó el blanco del electrodo, entonces se colocaron 2 mL del blanco de digestión y se compararon los resultados. Aparece una señal alrededor de 300 mV y la barrera anódica crece. Se trazó de nuevo un blanco de ácido perclórico 0,1 mol/L y ahora se colocaron 2 mL de la muestra digerida correspondiente al lote 8, nuestro lote testigo.

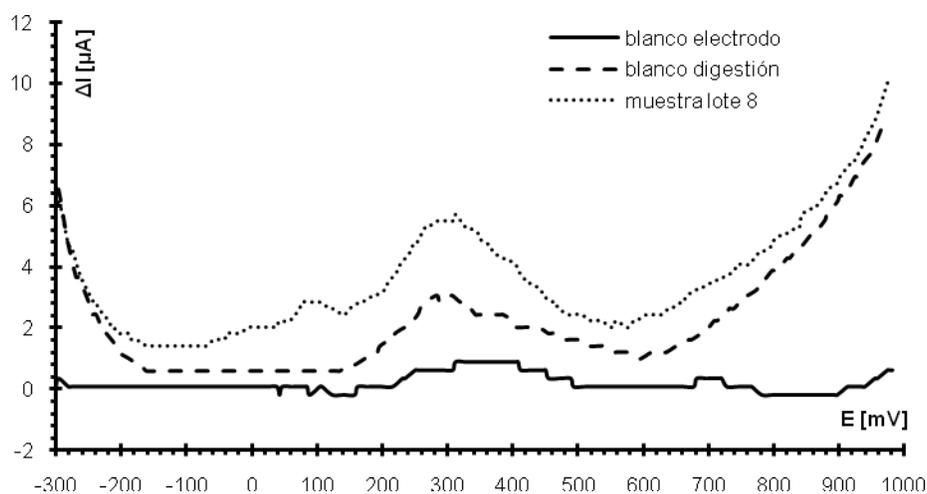


gráfico 4.9 Comportamiento voltamperométrico de la muestra testigo, con el blanco de digestión y el blanco del electrodo, por VDPRA sobre un electrodo de trabajo de oro.

En el *gráfico 4.9* se observa que la señal alrededor de 300 mV se encuentra en los tres registros, blanco del electrodo, blanco de digestión y muestra del lote 8. Señal por demás cercana a la señal de mercurio en la curva de calibración se encuentra alrededor de 250 mV. Se continuó limpiando el electrodo de trabajo mecánicamente entre cada corrida, en este caso entre cada blanco de electrodo.

Se colocaron 2 mL de ácido perclórico 0,1 mol/L en la celda y se trazó de nuevo el blanco del electrodo. Se colocaron 2 mL de la muestra correspondiente al lote 3 y se aplicó el programa de perturbación. Se obtuvo una señal alrededor de 700 mV, la cual apareció de nuevo al correr la muestra correspondiente al lote 2. La señal alrededor de 300 mV que aparece en el blanco de digestión y en la muestra del lote 8, decrece en las muestras de los lotes 3 y 2.

Se esperaba que la muestra del lote 2 diera una señal mayor que la correspondiente al lote 3, ya que esta última se expuso a menor concentración de mercurio. Además la masa recuperada del lote 3 fue de 0,4730 g y del lote 2 se obtuvieron 0,3393 g, tal vez la diferencia de masa explique el porque de la diferencia en las corrientes de pico.

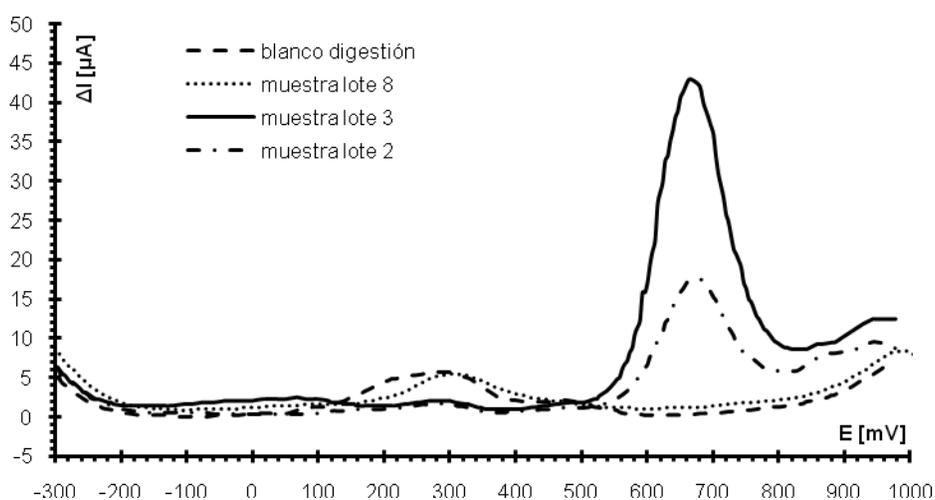


gráfico 4.10 Voltamperogramas de los residuos de digestión de las muestras simuladas de fitorremediación correspondientes a los lotes 2, 3 y 8 por VDPRA con un electrodo de oro en ácido perclórico 0,1 mol/L.

La muestra no se comportó como se esperaba, debido al desplazamiento de la señal esperada en las muestras simuladas de fitorremediación. Se detuvo el análisis como estaba en este punto, donde pensábamos obtener la concentración a partir de la curva de calibración obtenida anteriormente. Por lo que se decidió hacer adiciones estándar sobre las muestras para determinar su concentración.

Se aplicó el mismo programa de perturbación. En la etapa de electrodeposición se impuso un potencial reductor (-300 mV) por 15 minutos, con una agitación constante (agitador casero alimentado con 3 V) y 10 s para estabilización antes del barrido. Para la redisolución se hizo un barrido anódico de -300 mV a 1000 mV por VDP, con una velocidad de barrido de 5 mV/s, con pulsos de 50 mV y un tiempo de muestreo de 0,5 s. La etapa de limpieza se hizo imponiendo un potencial de 900 mV por 1 minuto con agitación constante.

En la celda se colocaron 2 mL de ácido perclórico 0,1 mol/L y se trazó el blanco del electrodo, enseguida en la misma celda se hicieron tres adiciones de una disolución estándar 0,01 mmol/L de Hg^{2+} , de 10, 50 y 100 μL . Ahora aparecían dos señales nuevas, una cerca de 100 mV y la otra en 500 mV. La señal cerca de 100 mV se observa en el blanco, pero crece y se desplaza con las adiciones de mercurio. Mientras que la señal de 500 mV no está bien definida y no aparece en el blanco, por lo que la asociamos a la presencia de mercurio.

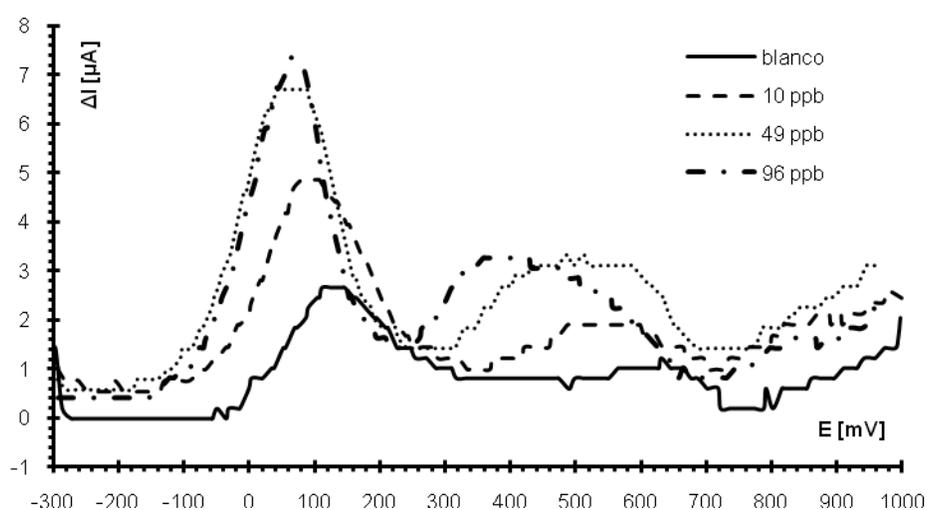


gráfico 4.11 Comportamiento voltamperométrico de disoluciones estándar de mercurio(II) en ácido perclórico 0,1 mol/L, por VDPRA sobre un electrodo de oro.

Se intentó elaborar una curva de calibración con estos datos, para saber si el aumento de corriente en los picos corresponde al aumento de la concentración de mercurio en la disolución. Primero se graficó la corriente de pico de las señales en función de la concentración en disolución, pero no parece una tendencia lineal *gráfico 4.12 izquierda*. Por lo que se graficó de nuevo la corriente de pico de las señales, pero ahora se hizo en función del logaritmo base 10 de la concentración en disolución en unidades mol/L. Esto linealizó los datos, lo que nos dice que la señal obtenida no depende únicamente de la transferencia de masa, sino que puede haber una contribución cinética o de una reacción acoplada. Lo cual no se observó en las curvas de calibración previas a esta parte del trabajo, tal vez por la reducción del volumen inicial que da lugar a un factor de dilución menor.

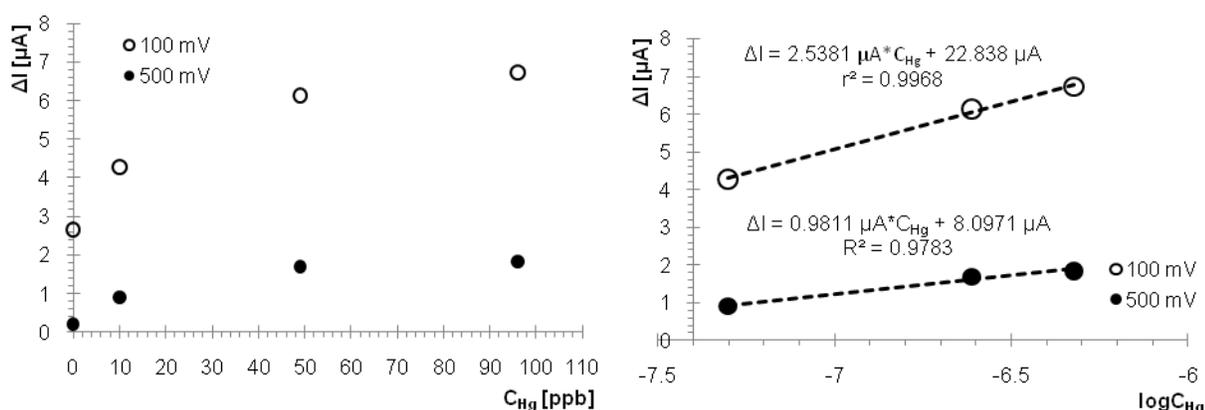


gráfico 4.12 Correlación entre la diferencia de potencial y la concentración de mercurio(II), no parece haber correlación lineal para el valor de concentración (izquierda), sin embargo al aplicar el logaritmo de base diez se logra obtener una buena correlación lineal (derecha).

Se analizaron 2 mL del blanco de digestión y 2 mL de la muestra correspondiente al lote 8, con el mismo programa de perturbación. Se observó una señal alrededor de 200 mV y otra en 900 mV, en ambos registros aparecen las dos señales, la señal cerca de 200 mV es la misma que aparece en el blanco de la curva de calibración anterior. Se pusieron en la celda 2 mL de la muestra del lote 7 y se hicieron dos adiciones de una disolución de Hg^{2+} 0,01 mmol/L, donde aumentó la corriente de pico de la señal alrededor de 200 mV, aparece una señal alrededor de 450 mV que crece con el aumento de la concentración y la señal cerca de 900 mV mantuvo el mismo valor de corriente *gráfico 4.13*.

De la curva de calibración por adiciones estándar podemos obtener la concentración de mercurio en la disolución y por tal la concentración de mercurio en la planta seca. Esto se hizo con las ecuaciones de regresión lineal para cada señal, asociadas al mercurio, extrapolando la recta hasta llegar a la intersección con el eje de concentración y tomando el valor de la intersección como la concentración de mercurio en la disolución. Las dos señales nos llevan a resultados similares, esto quiere decir que las dos responden de igual forma al aumento en la concentración de mercurio, pero la señal de 200 mV al tener una pendiente más pronunciada es más sensible al cambio de concentración. Lo que se puede observar en los voltamperogramas, donde la señal de 200 mV crece a mayor velocidad que la señal de 450 mV.

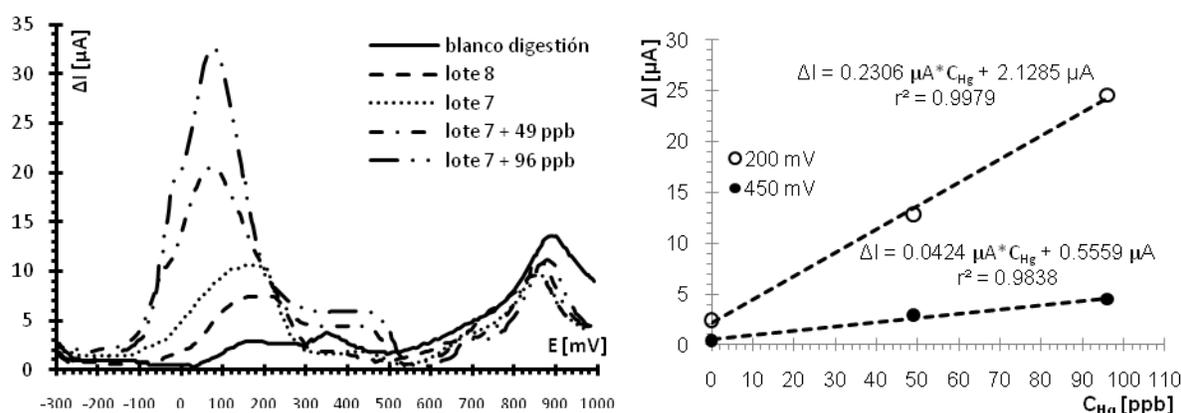


gráfico 4.13 Voltamperogramas (derecha) y curva de calibración por adiciones estándar (izquierda) por VDPRA sobre un ET de oro, para determinar la concentración de la muestra del lote 7 con dos adiciones de 50 μL de una disolución de 0,01 mmol/L Hg^{2+} .

Se analizaron de la misma manera los lotes 4, 5 y 6 para determinar la cantidad de mercurio acumulado en la biomasa seca. Ya que se conoce la concentración en disolución y el volumen inicial, de la disolución preparada a partir del residuo de digestión de cada lote, se puede calcular la concentración en ésta última. Además se conoce la masa de la planta seca de cada lote, con esta información podemos asignar la concentración de mercurio acumulado en la planta, como se muestra en la *tabla 4.1*.

lote	$\log C_{\text{Hg/disoln}}$	$C_{\text{Hg/planta}}$ [$\mu\text{g/g}$]
4	-4,5	8,27
5	-5,0	2,97
6	-5,5	0,34
7	-6,0	0,17

tabla 4.1 Resultados de la determinación de mercurio por VDPRA sobre un ET de oro en las muestras simuladas de fitorremediación (lotes 4, 5, 6 y 7), resultados expresados en microgramos de mercurio por gramo de planta seca.

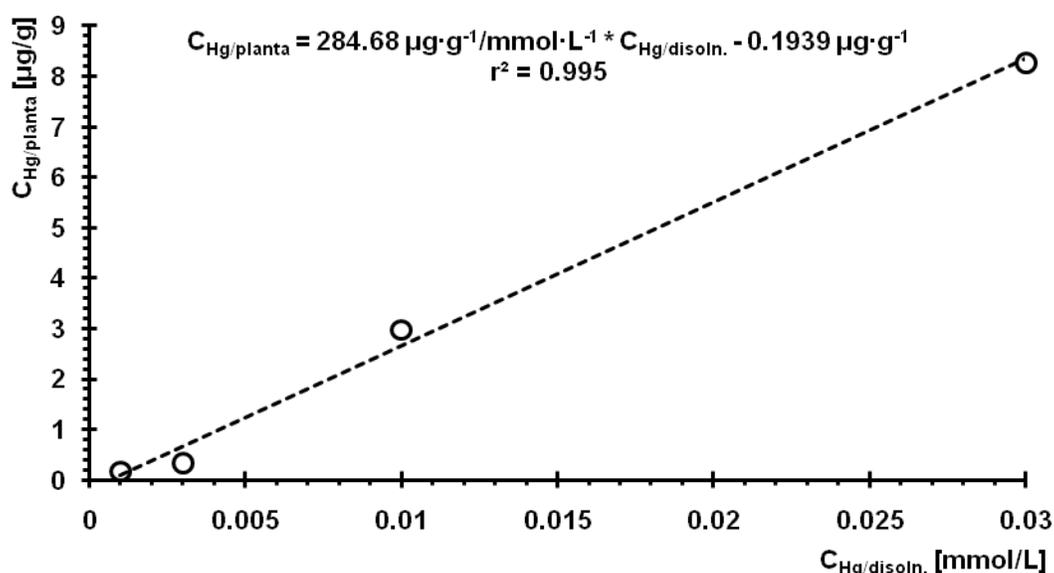


gráfico 4.14 Comparación de la concentración de mercurio en planta seca en función de la concentración de mercurio en la disolución nutritiva con la que se rego el sustrato sólido, indicador de la concentración de mercurio en el suelo simulado de fitorremediación⁹.

Este resultado ya lo esperábamos, ya que al tener mayor cantidad de mercurio disponible esperaríamos que se acumulara más mercurio en las plantas. Cabe señalar que las muestras de los lotes 3 y 4, no llegaron a esta etapa del análisis, por lo que no hay datos disponibles para comparar con la concentración de los demás lotes. De los lotes analizados el porcentaje de mercurio recuperado es constante alrededor del 4,5 % de la cantidad de mercurio agregada en la disolución nutritiva hasta el día de corte.

Se mandó a analizar una muestra por espectrometría de absorción atómica a la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación USAI, Laboratorio de Absorción Atómica. Las muestras enviadas, fueron el lote testigo (lote 8) y el lote con menor concentración de mercurio (lote 7). En la muestra del lote 8 no se detectó mercurio y en la muestra del lote 7, se obtuvo la concentración de 30,77 ppb que se entienden como 0,406 μg de mercurio en 1 g de planta seca. Este valor es poco más del doble del valor determinado por vía electroquímica, lo cual nos confirma que nuestra determinación es equiparable a la de un método estandarizado como lo es la espectrometría de absorción atómica.

De los lotes que se analizaron el valor máximo de mercurio en planta seca fue de 8,27 $\mu\text{g/g}$ para el lote 4, dicho valor se acerca al reportado en la literatura para considerar una planta hiperacumuladora de dicho metal (10 $\mu\text{g/g}$)^{23,24}. Hasta este punto hemos demostrado que *Phaseolus vulgaris* es una planta acumuladora de mercurio, no sólo eso, sino que podría ser candidata a planta hiperacumuladora.

Para sustentar lo anterior, como se ha demostrado en el capítulo 2, *Phaseolus vulgaris* es una planta tolerante al mercurio(II). De los lotes sembrados el único que no germinó fue aquel con 213 $\mu\text{g/g}$ (mercurio en algodón), y el que tenía una concentración menor inmediata (64 $\mu\text{g/g}$) sí germinó. Con lo anterior estimamos el intervalo de tolerancia 64 – 213 $\mu\text{g/g}$, el cual esta dentro de los límites permisibles para un suelo con fines industriales 310 $\mu\text{g/g}$, de acuerdo a la normatividad mexicana¹⁸. Por el contrario, dicho intervalo se encuentra por encima del límite permisible para suelos de uso agrícola o residencial (23 $\mu\text{g/g}$); por lo que podemos proponer que *Phaseolus vulgaris* sea utilizada para la remediación de dichos suelos.

Capítulo 5. Recuperación de mercurio

Como ya se mencionó, uno de los problemas que acompañan la fitorremediación es la disposición de la biomasa utilizada para disminuir la toxicidad del suelo, hasta niveles aceptados para el fin que tenga en suelo. Típicamente toma varias cosechas remediar un suelo por fitorremediación, lo que genera una gran cantidad de biomasa tóxica, la cual debe ser almacenada o desechada de manera adecuada para no generar otro problema ambiental.

Se dice que la biomasa no es más que energía solar almacenada en masa vegetal, óigase materia orgánica combustible. Existen varios autores que han propuesto recuperar esta energía al quemar la biomasa contaminada, lo que reduce el volumen hasta un 2 %, dejando cenizas que pueden ser fácilmente almacenadas o tratadas. Esto tomando las medidas cautelares necesarias, ya que no se puede hacer la combustión al aire libre, de lo contrario los contaminantes volátiles podría esparcirse en la atmósfera y generar otro problema ambiental⁹.

El uso de la biomasa como fuente de energía podría parecer una solución práctica, sin embargo la biomasa contaminada con mercurio no podría seguir este fin, debido al punto de ebullición y la presión de vapor del metal o sus derivados. Generaríamos un problema ambiental mayor al llevar el metal a la atmósfera, por lo que este tratamiento sólo se puede hacer en un horno sellado para no tener fugas de mercurio, lo que elevaría los costos de tratamiento.

Una alternativa interesante para el tratamiento de la biomasa contaminada con metales, es la extracción de estos para dejarla libre de dichos contaminantes. Se pueden extraer los metales a través de la formación de compuestos solubles en el medio extráctante adecuado, lo cual implica un proceso más en el tratamiento del residuo. Pensando en procesos amigables con el medio ambiente y de bajo costo, lo ideal es poder disolver estos compuestos en agua, lo que facilita la búsqueda del ligante a utilizar.

En este trabajo se propone la formación de compuestos solubles en agua, con un ligante amable con el medio ambiente en condiciones químicas controladas y la posterior recuperación del metal por vía electroquímica. En la literatura se menciona el uso de compuestos de yodo como oxidante para llevar el mercurio a su forma Hg^{2+} , y el yoduro como agente complejante para solubilizarlo. Una vez que se tiene el mercurio en disolución se puede electrodepositar sobre un electrodo, limpiando la disolución de mercurio y recuperándolo ⁶².

En nuestra metodología proponemos el uso de una disolución concentrada de cloruros en medio ácido para tener la formación de un solo compuesto de mercurio, el ión tetracloruro mercurio(II) de acuerdo a los diagramas de predominio de estado *figura 1.2*. Una vez el metal en disolución, se aplica un potencial reductor para depositarlo en forma de mercurio(0).

5.1 Electrodepósito de mercurio sobre grafito

Una vez que ya se digirieron las muestras simuladas de fitorremediación, y que se ha determinado la cantidad de mercurio en la planta, resta su recuperación por vía electroquímica. El mercurio en las muestras digeridas se encuentra en su forma oxidada, ya que no hay información acerca de la ruta metabólica del mercurio o de sus especies. Típicamente se reporta mercurio total, ya que la mayoría de los análisis de mercurio en plantas se hace por espectrometría de absorción atómica, técnica que determina mercurio total y no permite especiarlo.

Antes de introducir las muestras obtenidas, se hicieron varios ensayos para determinar las condiciones de electrodepósito. Para esto se utilizó el potenciostato modelo PGP201 (Radiometer-Copenhagen), una celda de 5 mL, como electrodo de trabajo un disco de grafito ($D = 7,5 \text{ mm}$), una barra de grafito ($D = 2 \text{ mm}$) como electrodo auxiliar y un electrodo de referencia de plata cloruro de plata ($\text{Ag}^0|\text{AgCl}_{(s)}|\text{KCl}_{\text{sat.}}||$).

Se utilizaron dos programas de perturbación, cronoamperometría y voltamperometría cíclica de barrido anódico. El primero para el electrodepósito de mercurio a un potencial reductor de -1000 mV por 15 minutos con agitación constante (3 V, agitador de bajo costo). La voltamperometría cíclica se hizo para caracterizar la superficie del electrodo, de -1000 mV a 1000 mV a una velocidad de 500 mV/min en un régimen de difusión pura.

Se ensayó el electrodepósito sobre una serie disoluciones con cloruro de sodio y ácido clorhídrico, mientras que para la caracterización del electrodo en todos los casos se utilizó una disolución de nitrato de potasio 0,1 mol/L.

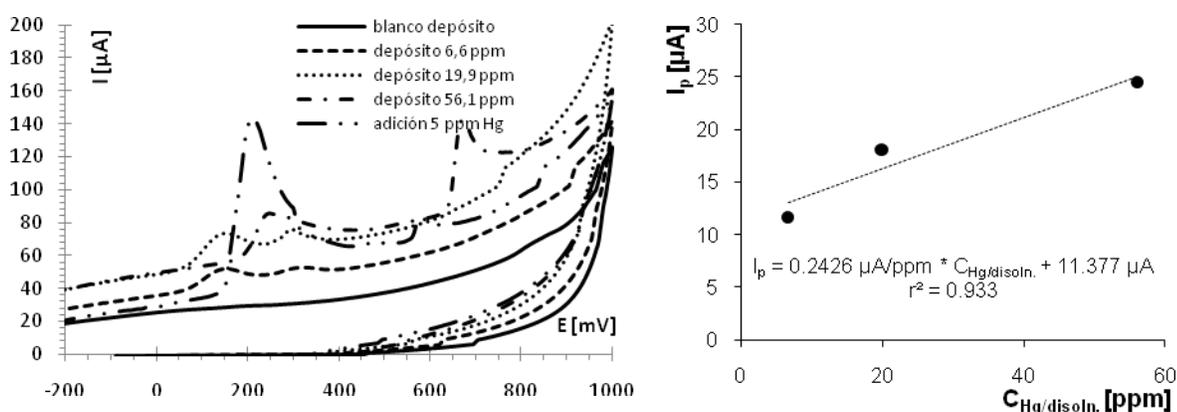


gráfico 5.1 Comportamiento voltamperométrico (izquierda) y curvas de corriente de pico (derecha) para el electrodepósito de mercurio(II) en condiciones de amortiguamiento del complejante $p\text{Cl} = 0$ sin controlar el pH.

El depósito de mercurio(II) a $p\text{Cl} = 0$ es proporcional a la concentración presente en la disolución con una sola señal alrededor de 220 mV y en uno de los ensayos una señal en 670 mV, ensayado en un intervalo de 6,6 a 56,1 ppm gráfico 5.1. Mientras que para el depósito de mercurio(II) a $p\text{Cl} = 0,3$ y $\text{pH} = 0,3$ (HCl) el depósito es más cuantitativo en comparación con el experimento anterior, con la aparición de dos señales de oxidación a 250 mV y 670 mV a una concentración de 66,6 ppm. Esta última desaparece al realizar un barrido catódico después de la etapa caracterización del electrodo (barrido anódico), a la vez que la señal de 250 mV sólo disminuye un poco su corriente de pico gráfico 5.2.

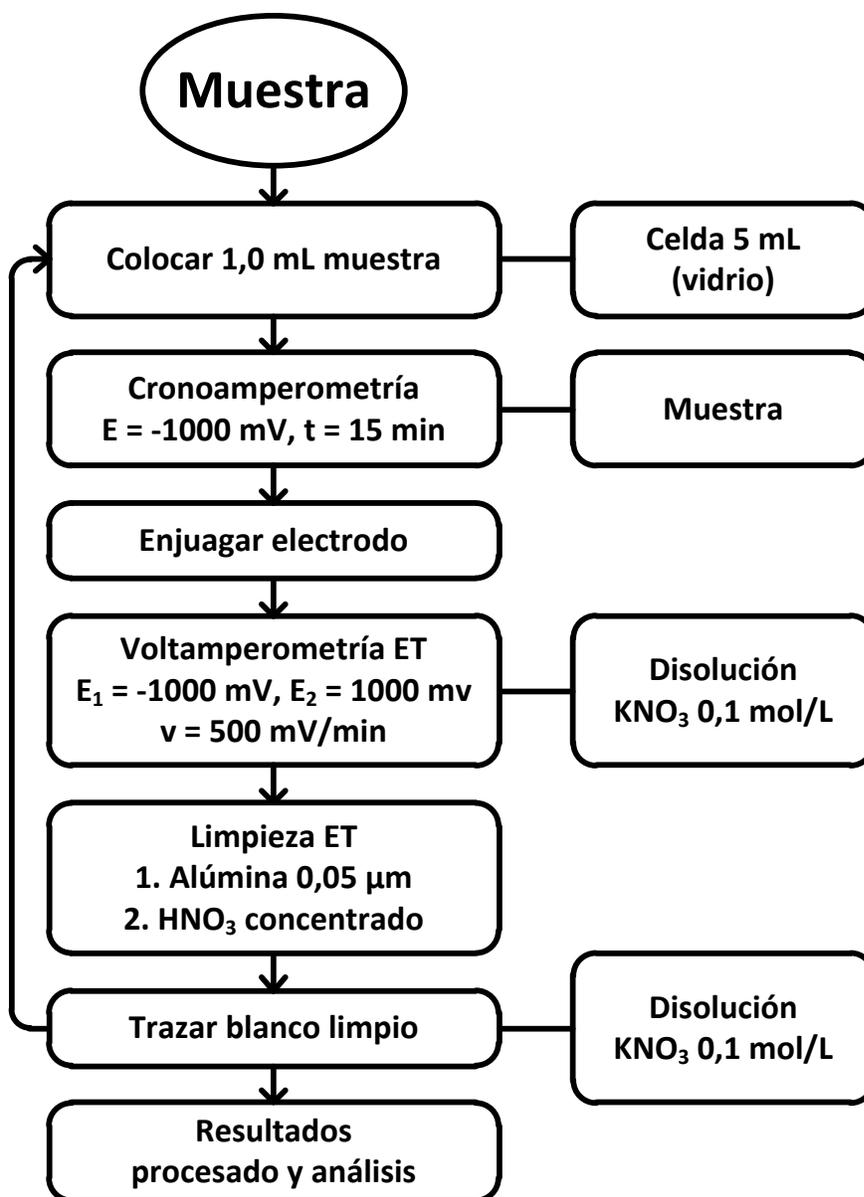


figura 5.1 Diagrama de flujo de trabajo para el electrodeposición (cronoamperometría) y el posterior análisis (voltamperometría) del electrodo en una disolución de KNO₃, para extracción de mercurio.

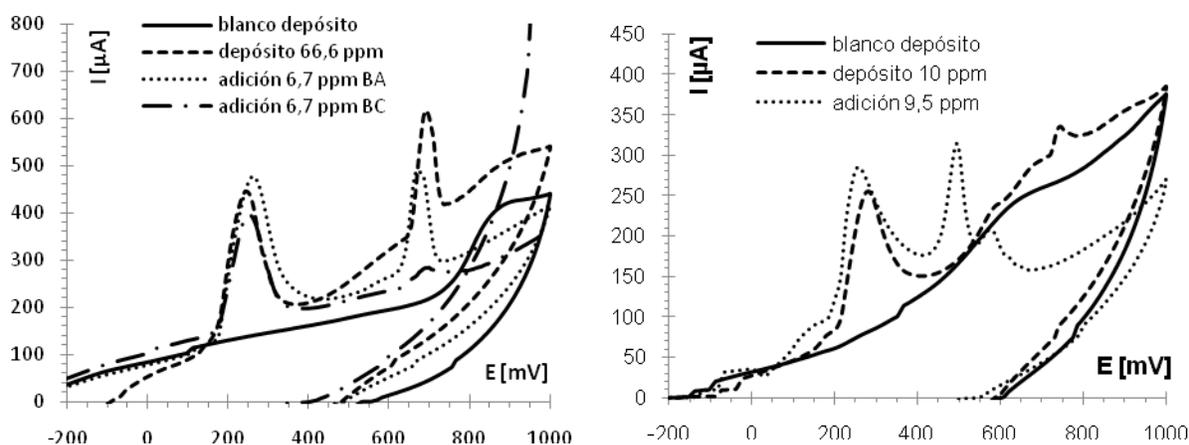


gráfico 5.2 Comportamiento voltamperométrico del electrodepósito de mercurio(II) en condiciones de amortiguamiento de $p\text{Cl} = 0$ (NaCl) y $p\text{H} = 0,3$ (HCl) (izquierda), y $p\text{Cl} = 0$ y $p\text{H} = 0$ (HCl) (derecha).

Se intentó imponer $p\text{H}$ y $p\text{Cl}$ con una misma disolución concentrada (HCl 1,0 mol/L) el resultado es similar al experimento anterior, a diferencia que en éste se observan dos señales diferentes al hacer la adición de mercurio(II) estándar, una alrededor de 450 mV y la otra en 550 mV gráfico 5.2.

De ésta serie de experimentos podemos inferir el efecto del $p\text{H}$ en la recuperación de mercurio por vía electroquímica. Siendo que a mayor acidez se tienen las mejores condiciones que propician el electrodepósito de mercurio sobre el electrodo de grafito en un medio con cloruros. Lo anterior también confirmado por los diagramas de predominio de estado para el mercurio y sus complejos con el ión cloruro bajo la influencia del $p\text{H}$, $p\text{Cl}$ y $p\text{M}$, aunque este último parámetro no es de mayor relevancia en las condiciones de trabajo ($p\text{H}$ cercanos a 0) capítulo 1.

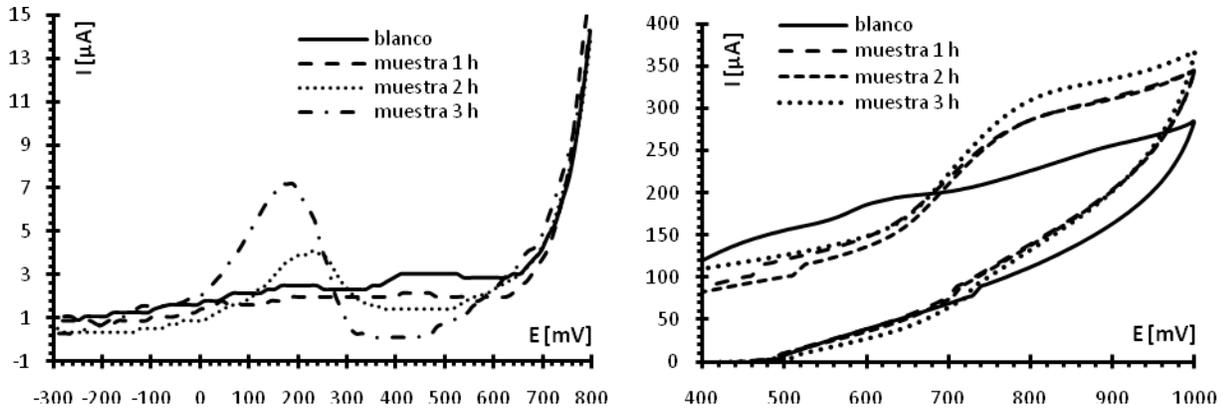
5.2 Electrodepósito de mercurio en muestras simuladas de fitorremediación

Una vez que se conocen las condiciones de electrodepósito de mercurio sobre el electrodo de grafito, se lleva la técnica a las muestras reales. Se cultivó un lote de 100 plantas como se indica en el *sección 2.2* de éste trabajo, regadas con una disolución Hoagland Arnon con mercurio(II) 0,001 mmol/L por 15 días. Al momento del corte, la biomasa se guardó en recipientes de plástico en refrigeración hasta su uso para el análisis. Después de la etapa de refrigeración se secó la muestra en microondas por 15 minutos para su uso en la extracción de mercurio.

La extracción de mercurio se hizo con una disolución de cloruro de sodio 0,5 mol/L. Se pesaron 4,5094 g de planta seca y se colocaron en un recipiente con 100,0 mL de la disolución de cloruro de sodio, el cual se mantuvo con agitación constante y se tomaron alícuotas de la mezcla (~ 2,0 mL) en tubos para microcentrifuga. Cada una de estas muestras se centrifugó por 5 minutos, se separó 1,0 mL del sobrenadante y el resto se regresó al recipiente de la extracción. A dichas muestras se les agregó 1,0 mL de una disolución de ácido perclórico 0,1 mol/L.

En las primeras seis horas se tomaron las primeras muestras, cada una con una hora de diferencia. Cada una de las muestras se analizó por VDPRA con el electrodo de oro como se describe en la *sección 4.3* de éste trabajo y después se hicieron los ensayos para recuperar el mercurio en disolución como se describió en la sección anterior.

En la determinación de mercurio(II) se midió la altura de pico en los voltamperogramas obtenidos, donde se tiene una suma de las corrientes de dos picos (200 mV y 700 mV, este último no presente en todos los casos) la cual aumenta conforme aumenta el tiempo de extracción. Dicha relación también se observa en los experimentos de electrodepósito, aunque la correlación entre estos dos experimentos se observa sólo en tres puntos.



5.3 Comportamiento voltamperométrico de la determinación de mercurio(II) en un electrodo de oro (izquierda), y electrodeposición en un electrodo de grafito (derecha) en muestras de extracción en medio clorurado.

Dicha correlación entre las corrientes de pico de los experimentos de determinación y electrodeposición de mercurio(II), aunque la respuesta no es lineal, se espera que la extracción sea lenta y que llegue a un punto donde la concentración de mercurio se vuelva constante. Existe un pequeño cambio en la concentración debido al cambio de volumen de extracción, aunque despreciable hasta diez muestras.

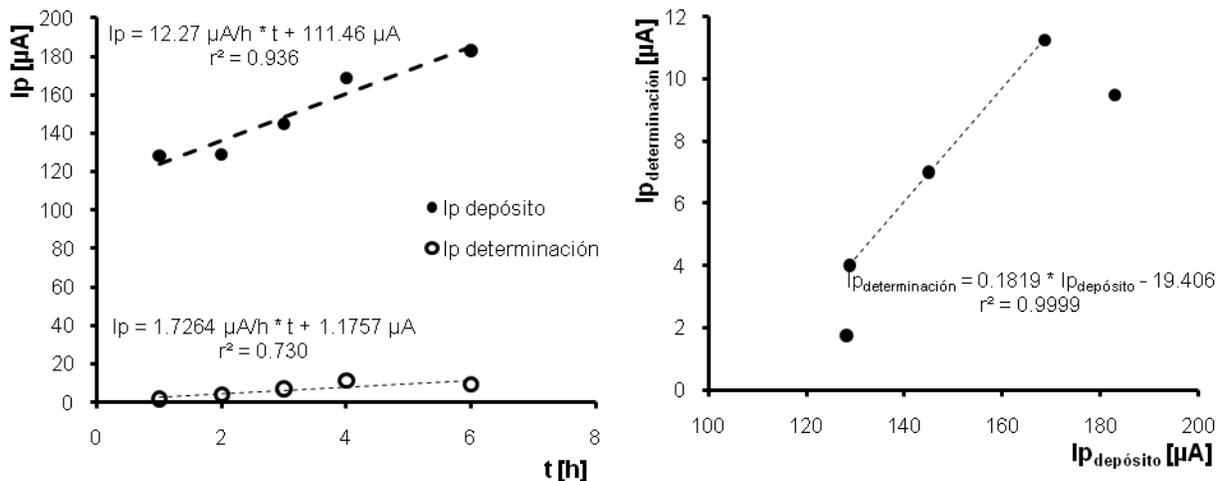


gráfico 5.4 Corriente de pico en la determinación y electrodeposición de mercurio(II) en función del tiempo de extracción en medio clorurado (izquierda), y correlación de las corrientes de pico (derecha).

El sistema de extracción no parecía muy eficiente, por lo que se agregó una etapa de homogeneización antes de la extracción. Con la ayuda de una licuadora (Osterizer, modelo 450-08M, SUNBEAM MEXICANA S.A. de C.V.) se homogeneizó la mezcla previo a la extracción *figura 5.2*, reduciendo así el área de contacto entre la biomasa y la disolución.

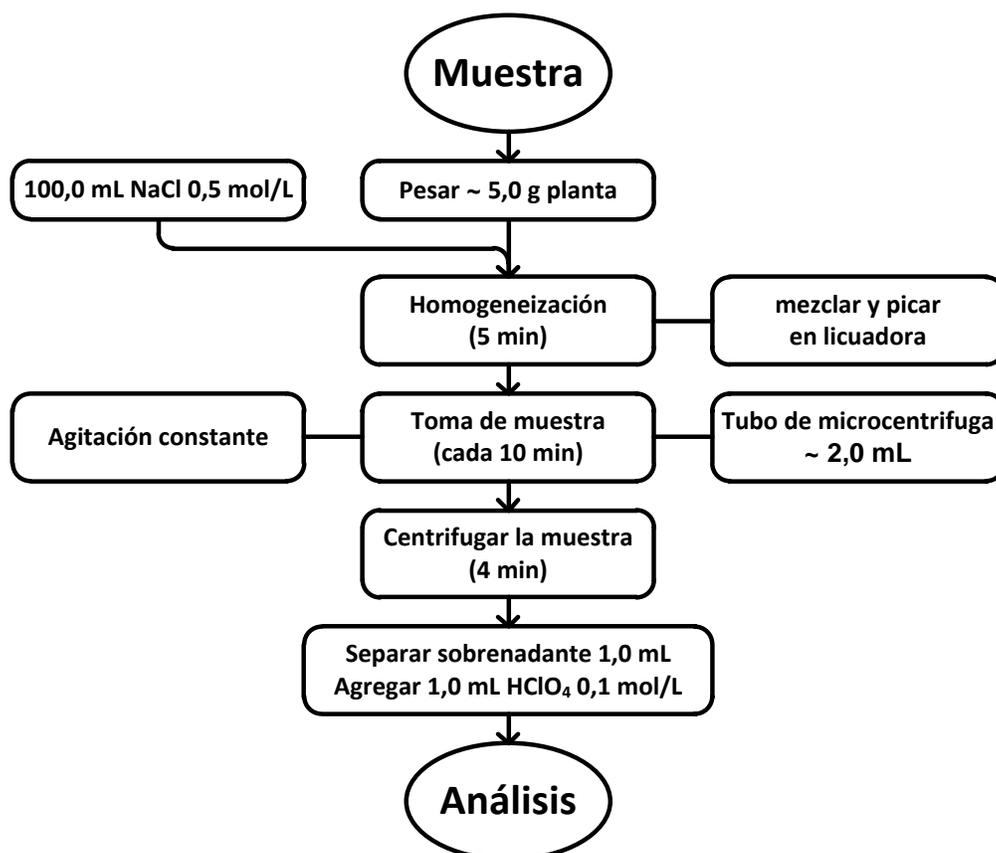


figura 5.2 Diagrama de flujo operatorio para la extracción de mercurio en muestras simuladas de fitorremediación.

Se pesaron 5,1572 g de planta seca y se midieron 100,0 mL de la disolución NaCl 0,5 mol/L, se colocaron en el vaso de la licuadora y se homogeneizó la muestra por 5 minutos. La mezcla se mantuvo con agitación constante y se tomaron alícuotas de la mezcla (~ 2,0 mL) en tubos para microcentrifuga con una frecuencia de 10 minutos. Cada una de estas muestras se centrifugó por 4 minutos, se separó 1,0 mL del sobrenadante y el resto se regresó al recipiente de la extracción. A dichas muestras se les agregó 1,0 mL de una disolución de ácido perclórico 0,1 mol/L para su análisis.

Las primeras diez muestras se tomaron desde el tiempo 0 hasta 90 minutos, a partir de esta se tomaron otras cuatro muestras cada quince minutos hasta 150 minutos, se tomaron otras tres cada media hora hasta 240 minutos, una muestra a los 330 y otras dos muestras en tiempos prolongados a 1440 y 2880 minutos.

Se hizo el análisis para cada muestra por VDPRA, como se describe en el capítulo anterior, de los resultado se graficaron las corrientes de pico en función del tiempo de extracción *gráfico 5.5*. La respuesta se vuelve totalmente la opuesta al resultado sin la etapa de homogeneización, la corriente de pico asociada al mercurio (alrededor de 800 mV) disminuye conforme aumenta el tiempo de extracción. A pesar de que la dispersión de los datos es muy notoria, la tendencia se ve claramente. Dicha dispersión está asociada a la biomasa remanente aún después de la etapa de centrifugación, la cual puede provocar un efecto de apasivamiento sobre el electrodo de oro.

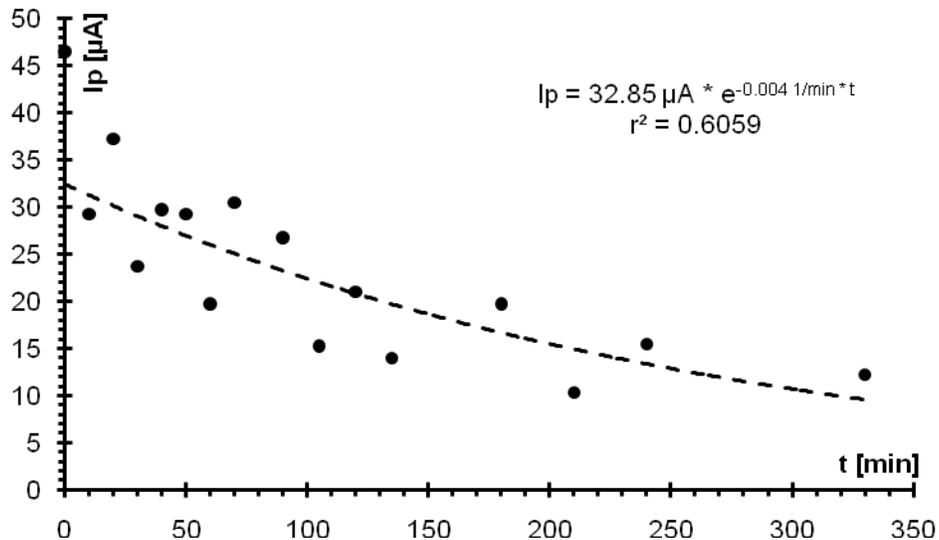


gráfico 5.5 Corriente de pico asociada a la concentración de mercurio presente en el medio de extracción con cloruros en función del tiempo de extracción.

Se realizó de nuevo una extracción de mercurio presente en la biomasa, pero ahora se hizo con una disolución de ácido perclórico 0,1 mol/L. Se pesaron 3,0137 g de planta seca y se colocaron en un recipiente con 70,0 mL de la disolución de ácido perclórico, se homogeneizaron con la ayuda de una licuadora por cinco minutos. Entonces el recipiente se mantuvo con agitación constante y se tomaron alícuotas de la mezcla (~ 2,0 mL) en tubos

para microcentrifuga. Cada una de estas muestras se centrifugó por 5 minutos, se separaron 0,7 mL del sobrenadante y el resto se regresó al recipiente de la extracción.

Cada una de estas muestras se analizó por VDPRA como se describe en el capítulo anterior, primero se corrió un blanco (1,4 mL HClO_4 0,1 mol/L), luego la muestra (0,1 mL) y tres adiciones estándar (0,01 mL) de una disolución de mercurio(II) 0,1 mmol/L.

A diferencia de la extracción con los cloruros, el baño de ácido perclórico no muestra tendencia alguna, en ausencia de los complejos de cloruros los grupos sulfhidrilo de los aminoácidos compiten con los percloratos por el mercurio presente.

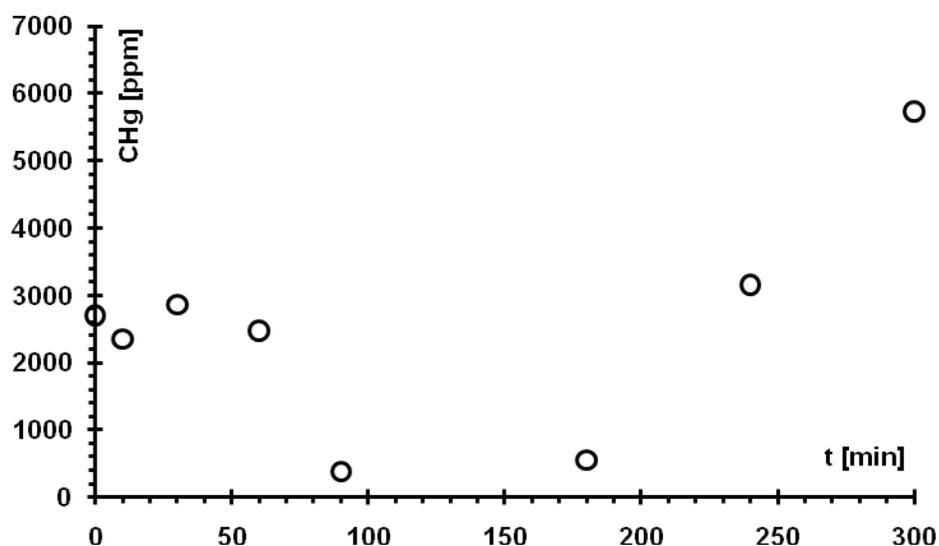


grafico 5.6 Concentración de mercurio presente en la extracción con ácido perclórico en función del tiempo de extracción, sin correlación.

Capítulo 6. Conclusiones

Conforme a lo planteado se lograron cumplir los objetivos:

- Se demostró que *Phaseolus vulgaris* es una planta tolerante al mercurio(II), estimamos el límite de tolerancia en el intervalo de 64 – 213 $\mu\text{g}_{\text{Hg}}/\text{g}_{\text{suelo}}$. Cuya tolerancia se encuentra por encima del valor de referencia para suelos para uso agrícola y residencial (23 $\mu\text{g}_{\text{Hg}}/\text{g}_{\text{suelo}}$)¹⁸, por tal *Phaseolus vulgaris* podría proponerse para la remediación de suelos contaminados con mercurio.
- Se observó el comportamiento de *Phaseolus vulgaris* como una planta metal acumuladora (gráfico 4.14), además se demostró que en un medio con altas concentraciones de mercurio(II) presenta un alto grado de absorción de mercurio en sus partes aéreas, cercano a una planta hiperacumuladora de mercurio^{23,24}.
- El método para la determinación de mercurio(II) probó ser equiparable a un método de referencia, espectroscopía de absorción atómica.
- Se demostró que es factible la recuperación de mercurio de biomasa proveniente de un sistema de fitorremediación utilizando cloruros como ligante para facilitar la remoción del mercurio, aunque su eficiencia queda todavía por determinarse.

Capítulo 7. Referencias

- 1 Fabbrizzi, Luigi. *Communicating about matter with symbols: Evolving from alchemy to chemistry*. J.Chem. Educ. **85** (2008) 1501-1511.
- 2 Nagel, Miriam C. *Mercury poisoning: each generation needs to be told*. J. Chem. Educ. **64** (1987) 802.
- 3 Galvão, Luis A. C. y Corey, Germán. *Mercurio*. Serie Vigilancia No. 7. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. Organización Panamericana de la Salud. Organización Mundial de la Salud. Metepec, México (1987) págs. 1-8.
- 4 Dushenkov, Viatcheslav; Kumar, P. B. A. Nanda; Motto, Harry; and Raskin, Ilya. *Rhizofiltration: the use of plants to remove heavy metals from aqueous streams*. Environ. Sci. Technol. **29** (1995) 1239-1245.
- 5 Clemens, Stephan; Palmgren, Michael G. and Krämer, Ute. *A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation*. TRENDS in Plant Science **7** (2002) 309-315.
- 6 Brooks, Robert R.; Chambers, Michael F.; Nicks, Larry J.; and Robinson, Brett H. *Phytomining*. TRENDS in Plant Science **3** (1998) 359-362.
- 7 Salt, D. E.; Blaylock, M.; Kumar, N. P. B. A.; Dushenkov, V.; Ensley, B. D.; and Chet, I. *Phytoremediation: a novel strategy for removal of toxic metals from the environment using plants*. Biotechnology **13** (1995) 468-474.
- 8 Ehsan, M.; Molumeli, P. A.; Espinosa, V. E.; Baeza, A.; Pérez, J.; Soto, M.; Ojeda, E.; Jean, D.; Ruiz, A.; and Robledo, E. *Contamination time effect on plant available fractions of Cadmium and Zinc in Mexican clay loam soil*. Journal of Applied Sciences **7** (2007) 2380-2384.
- 9 Ghosh, M.; and Singh, S. P. *A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of its byproducts*. Appl. Ecol. Environ. Res. **3** (2005) 1-18.
- 10 Sas-Nowosieslska, A.; Kucharski, R.; Malkowski, E.; Pogrzeba, M.; Kiperberg, J. M.; and Krynski, K. *Phytoextraction crop disposal-an unsolved problem*. Environ. Pollut. **128** (2004) 373-379.
- 11 Nuñez-Lopez, R. A.; Meas, Y.; Gama, S. C.; Ortega, R; and Olguín, E. J. *Leaching of lead by ammonium salts and EDTA from Salvinia minima biomass produced during aquatic phytoremediation*. Journal of Hazardous Materials. **154** (2008) 623-632.

- 12 Mayén-Mondragón, R.; Ibañez, J. G.; Vázquez R. C.; Baeza, A.; and Oropeza, M. T. *Electrochemical recovery of Cadmium from simulated waste Nickel-Cadmium battery solutions*. *Water Air Soil Pollut.* **194** (2008) 45-55.
- 13 Yoshida, Hiroyuki; and Kataoka, Takeshi. *Recovery of Mercury from a Mercury(II) form chelate resin by electrolytic desorption*. *Ind. Eng. Chem. Res.* **29** (1990) 2152-2154.
- 14 Greenwood, N. N.; Earshaw, A. *Chemistry of the elements*. 2a ed. Butterworth-Heinmann, Oxford (1997) págs. 1201-1226.
- 15 *Report to congress, Potential export of mercury compounds from United States for conversion to elemental mercury*. US Environmental Protection Agency, Office of Pollution Prevention and Toxic Substances. Washington DC (2009) págs. 78-83.
- 16 Domènech, Xavier; y Peral, José. *Química ambiental de sistemas terrestres*. Editorial Reverté, Barcelona (2006) págs. 135, 205-208.
- 17 *Exposure to mercury: a major public health concern*. Public Health and Environment, World Health Organization, Geneva (2007).
- 18 Norma Oficial Mexican NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, Que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, selenio, talio y/o vanadio.
- 19 Baeza, Alejandro. *Documento de apoyo: Equilibrio químico en disolución acuosa*. Facultad de Química, UNAM (2005). Obtenido de <http://depa.fquim.unam.mx/amyd/docs.php?curso=243>.
- 20 Baeza, Alejandro. *Química Analítica, Expresión gráfica de las reacciones químicas*. Primera edición, S y G editores, México DF (2006).
- 21 Kotrlý, S.; and Sucha, L. *Handbook of chemical equilibrium analytical chemistry*, Ellis Horwood Ltd., Chichester (1985), págs. 90-91, 110-137, 212-219, 226-231.
- 22 Salt, D. E.; Smith, R. D.; and Raskin, I. *Phytoremediation*. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **49** (1998) 643-668.
- 23 Lasat, Mitch M. *The use of plants for the removal of toxic metals from contaminated soil*. American Association for the Advancement of Science, Environmental Science and Engineering Fellow (2000). Obtenido de www.cepis.org.pe/bvsarp/i/fulltext/plants/plants.pdf.

- 24 Lasat, Mitch M. *Phytoextraction of toxic metals: a review of biological mechanisms*. J. Environ. Qual. **31** (2002) 109-120.
- 25 Cherian, Sam; and Oliveira, M. Margarida. *Transgenic plants in phytoremediation: recent advances and new possibilities*. Environ. Sci. & Tech. **39** (2006) 9377-9391.
- 26 Henry, Jeanna R. *An overview of the phytoremediation of Lead and Mercury*. National Network of Environmental Management Studies Fellow (2000).
- 27 Skinner, Kathleen; Wright, Nicole; and Porter-Goff, Emily. *Mercury uptake and accumulation by four species of aquatic plants*. Environmental Pollution **145** (2007) 234-237
- 28 Kvesitadze, G.; Khatishashvili, G.; Sadunishvili, T.; and Ramsden, J. J. *Biochemical mechanisms of detoxification in higher plants: basis of phytoremediation*. Springer Science & Business Media, Berlin (2006) págs. 179, 181-182, 191.
- 29 Göthberg, Agneta; and Greger, Maria. *Formation of methyl mercury in an aquatic macrophyte*. Chemosphere **65** (2006) 2096-2105.
- 30 Moreno, Fabio N.; Anderson, Christopher W. N.; Stewart, Robert B.; and Robinson, Brett H. *Phytofiltration of mercury-contaminated water: volatilisation and plant-accumulation aspects*. Environmental and Experimental Botany **62** (2008) 78-85.
- 31 Hussein, Hussein S.; Ruiz, Oscar N.; Terry, Norman; and Daniell, Henry. *Phytoremediation of Mercury and organomercurials in chloroplast transgenic plants: enhanced root uptake, translocation to shoots, and volatilization*. Environ. Sci. & Tech. **41** (2007) 8349-8446.
- 32 Bache, Carl A.; Gutenmann, Walter H.; St. John, Jr. Leigh E.; Sweet, Robert D.; Hatfield, Herbert H.; and Lisk, Donald J. *Mercury and Methylmercury content of agricultural crops grown on soils Treated with various Mercury compounds*. J. Agr. Food Chem. **21** (1973) 607-613.
- 33 Baeza, Alejandro. *Documento de apoyo: principios de electroquímica analítica*. Facultad de Química, UNAM (2004). Obtenido de <http://depa.fquim.unam.mx/amyd/docs.php?curso=178>.
- 34 Wang, Joseph. *Analytical electrochemistry*. 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc. New York (2001), págs. 1, 28-31, 39, 60-62, 68-71, 75-76.

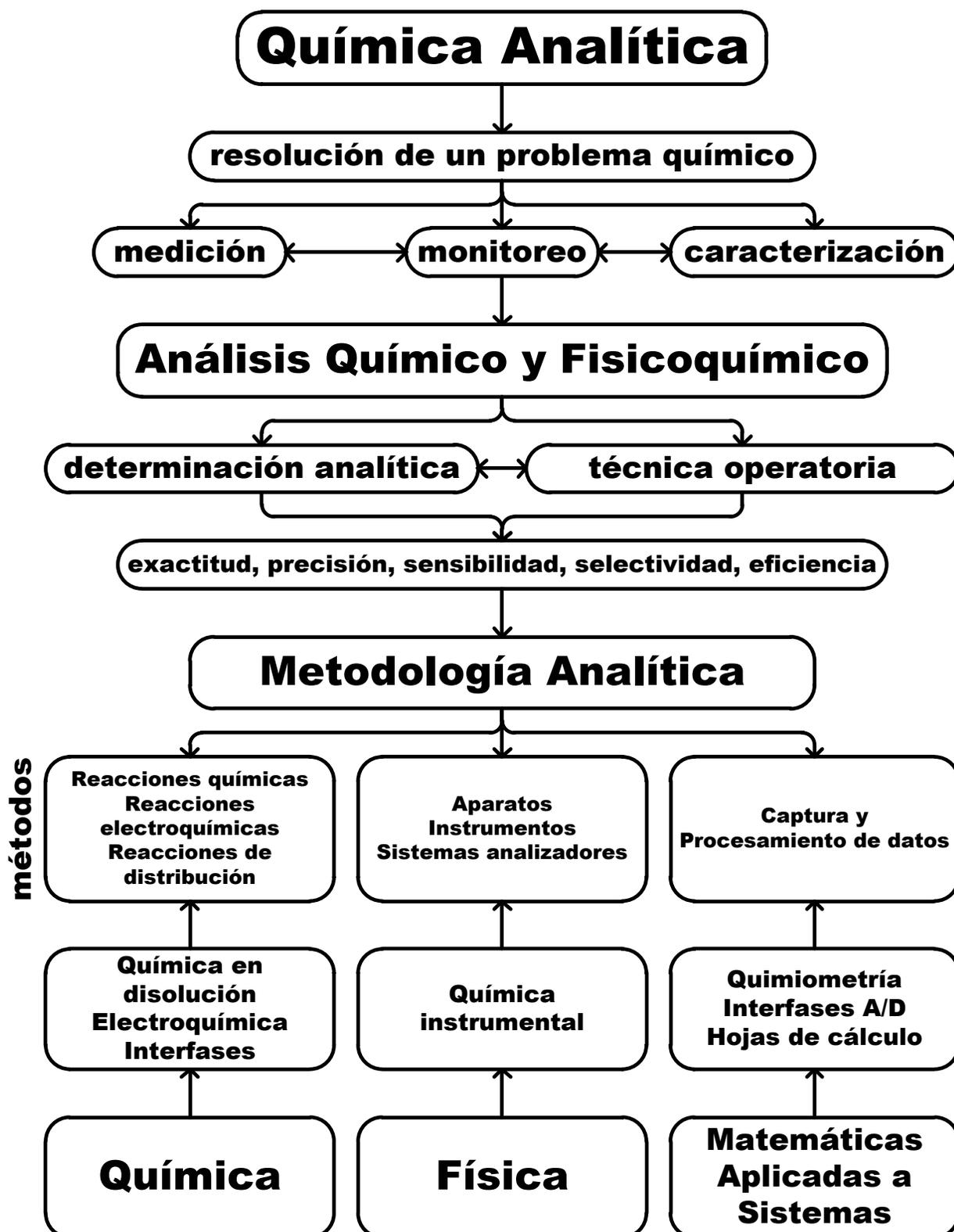
- 35 Bard, Allen J.; and Faulkner, Larry R. *Electrochemical methods, fundamentals and applications*. 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc. New York (2001), págs. 28-, 137-139, 459.
- 36 Koryta, Jiří; Dvořák, Jiří; and Kavan, Ladislav. *Principles of electrochemistry*. 2nd edition, Wiley & Sons, Inc. West Sussex (1993), pág. 1.
- 37 García Mendoza, Arturo de Jesús. *Influencia del nivel de acidez en la electrooxidación monoelectrónica del ferroceno y en la electrorreducción bielectrónica de la benzoquinona en un líquido iónico representativo: tetrafluoroborato de 1-butil-4-metilpiridinio*. México, D.F.: UNAM, 2009. Tesis de licenciatura, Facultad de Química. págs. 29-30, 87-100.
- 38 Bagotsky, V. S. *Fundamentals of electrochemistry*. 2nd edition, Wiley & Sons, Inc. Hoboken (2006), págs. 33-38.
- 39 Harvey, D. *Modern Analytical Chemistry*. Mc Graw-Hill Companies, EE. UU. (2000) págs. 463, 496.
- 40 Skoog, D. A.; Holler, F. J.; y Nieman, T. A. *Principios de análisis instrumental*. 5a ed. Mc Graw-Hill/Interamericana de España S. A., Madrid (2001), pág. 635.
- 41 Connell, Des W. *Basic concepts of environmental chemistry*. 2nd ed., Tylor & Francis Group. Boca Raton (2005) pág. 308.
- 42 Hoagland, D. R.; and Arnon, D. I. *The water-culture method for growing plants without soil*. University of California, Berkeley (1950), The College of Agriculture, Agricultural Experiment Station (Circular; 347).
- 43 Castañeda, Francisco. Manual de cultivos hidropónicos populares: producción de verduras sin usar la tierra. Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INACAP), Organización Panamericana de la Salud (OPS), Guatemala (1997), Versión electrónica (2001) descargado el 6 de agosto de 2009, págs. 6, 21, 29-31. <http://www.depadresahijos.org/INCAP/Hidroponicos.pdf>.
- 44 Hargreaves, J. A. *Investigations into the mechanism of mercuric chloride stimulated phytoalexin accumulation in Phaseolus vulgaris and Pisum sativum*. *Physiological Plant Pathology* **15** (1979) 279-287.
- 45 Nangniot, P. *La Polarographie en agronomie et en biologie*. J. DUCULOT, S. A. Gembloux (1970), págs. 140-142.

- 46 Bohenk, D. N.; and del Delumyea, R. *Laboratory experiments in environmental chemistry*. Prentice Hall, New Jersey (2000) págs. 128, 129.
- 47 Norma Oficial Mexicana NOM-117-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método de prueba para la determinación de cadmio, arsénico, plomo, estaño, cobre, fierro, zinc y mercurio en alimentos, agua potable y agua purificada por espectrometría de absorción atómica.
- 48 Henze, Günter; and Neeb, Rolf. *Elektrochemische Analytik*. Springer Verlag, págs. 192, 193.
- 49 Rajeshwar, Krishnan; and Ibañez, Jorge G. *Environmental electrochemistry, fundamentals and applications in pollution abatement*. Academic Press, San Diego (1997), págs. 26-27.
- 50 Method 245.7. *Mercury in Water by Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry*. U. S. Environmental Protection Agency (2005).
- 51 Andrews, Richard W.; Larochelle, John H.; and Johnson, Dennis C. *Determination of Trace Mercury(II) in 0.1 M Perchloric Acid by Differential Pulse Stripping Voltammetry at a Rotating Gold Disc Electrode*. Anal. Chem. **48** (1976) 212-214.
- 52 Salaün, Pascal; and van den Berg, Constant M. G. *Voltammetric detection of Mercury and Copper in seawater using a Gold microwire electrode*. Anal. Chem. **78** (2006) 5052-5060.
- 53 Watson, Charles M.; Dwyer, Daniel J.; Andle, Jeffrey C.; Bruce, Alice E.; and Bruce, Mitchell R. M. *Stripping analysis of mercury using Gold electrodes: irreversible adsorption of Mercury*. Anal. Chem. **71** (1999) 3181-3186.
- 54 Giacomino, Agnese; Abollino, Ornella; Malandrino, Mery; and Mentasti, Edoardo. *Parameters affecting the determination of Mercury by anodic stripping voltammetry using a Gold electrode*. Talanta **75** (2008) 266-273.
- 55 Cabello-Carramolino, G.; and Petit-Dominguez, M. D. *Application of new sol-gel electrochemical sensors to the determination of trace mercury*. Analytica Chimica Acta **614** (2008) 103-111.
- 56 Abu-Shawish, Hazem M. *A mercury(II) selective sensor based on N,N'-bis(salicylaldehyde)-phenylenediamine as neutral carrier for potentiometric analysis in water samples*. Journal of Hazardous Materials **167** (2009) 602-608.

- 57 Zen, Jyh-Myng; and Chung, Mudye. Square-wave voltammetric stripping analysis of mercury (II) at a poly(4-vinylpyridine)/gold film electrode. *Anal. Chem.* **67** (1995) 3571-3577.
- 58 Zhu, Zhiqiang; Su, Yuanyuan; Li, Jiang; Li, Di; Zhang, Jiong; Song, Shiping; Zhao, Yun; Li, Genxi; and Fan, Chunhai. *Highly sensitive electrochemical sensor for Mercury(II) ions by using a Mercury-specific oligonucleotide probe and Gold nanoparticle-based amplification.* *Anal. Chem.* **81** (2009) 7660–7666.
- 59 Liu, Si-Jia; Nie, Hua-Gui; Jiang, Jian-Hui; Shen, Guo-Li; and Yu, Ru-Qin. *Electrochemical sensor for Mercury(II) based on conformational switch mediated by interstrand cooperative coordination.* *Anal. Chem.* **81** (2009) 5724–5730.
- 60 Miller, James N.; and Miller, Jane C. *Estadística y quimiometría para química analítica.* 4^a ed., Prentice Hall (2002), págs. 111-130.
- 61 Bard, Allen J. (editor). *Encyclopedia of electrochemistry of the elements*, vol. IX, part A. Marcel Dekker, Inc. New York (1982), pág. 34.
- 62 USPatent 5,226,545. *Extraction of mercury and mercury compounds from contaminated material and solutions.* Foust, Donald F. (Inventor). General Electric Company (Assignee). Jul. 13, 1993.
- 63 Díaz Arista, Patricia. *Determinación de Peróxido de Hidrógeno en Muestras Clínicas.* México, D.F.: UNAM, 2004. Tesis de Maestría, Posgrado en Ciencias Químicas. pág. 30.

Capítulo 8. Anexos

Anexo 1. Esquema conceptual del trabajo an lítico.



Anexo 2. Método de análisis estadístico por regresión lineal

La estructura de todo proceso analítico se puede resumir en cuatro etapas: muestreo, preparación de muestra, mediciones y manejo de datos. Siendo la última etapa en la que los datos crudos son procesados, y se traducen en la caracterización de la muestra en valores numéricos; tales como la pendiente, ordenada al origen, coeficiente de correlación momento producto, etc. Con dichos valores estadísticos podemos comparar una metodología analítica con otra.

Para el análisis de un conjunto de datos, el modelo más sencillo es el de regresión lineal. Que se busca encontrar una ecuación lineal que relacione un parámetro conocido de la muestra con algún valor obtenido en la etapa de medición. Se supone entonces, que todos los errores cometidos se encuentran en el valor medido y , por lo que se busca minimizar la desviación en y entre los puntos experimentales y la curva teórica. Lo cual se logra cuando la curva pasa por el centro de gravedad de los puntos (\bar{x}, \bar{y}) , y se calcula con las siguientes ecuaciones:

$$m = \frac{\sum_i^n [(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\sum_i^n (x_i - \bar{x})^2} \qquad b = \bar{y} - m\bar{x}$$

$$\bar{y} = \frac{\sum_i^n y_i}{n} \qquad \bar{x} = \frac{\sum_i^n x_i}{n}$$

donde m es la pendiente de la curva y ayuda a evaluar la sensibilidad del método; b es la ordenada al origen y se relaciona con los errores sistemáticos; x_i el i ésimo valor de x , \bar{x} el promedio de los valores x_i , y_i el i ésimo valor de y , \bar{y} el promedio de los valores y_i , n el número de pares de valores x y y que conforman la muestra.

La recta obtenida se conoce como recta de regresión de y sobre x , pero esta ecuación no nos dice nada sin haber estimado antes la bondad de ajuste de los puntos experimentales a la ecuación obtenida. Para esto se utiliza el coeficiente de correlación momento producto r , el cual puede tener valores desde -1 hasta +1.

$$r = \frac{\sum_i^n [(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\sqrt{\sum_i^n (x_i - \bar{x})^2 \sum_i^n (y_i - \bar{y})^2}}$$

Se espera que los valores de y sean cercanos a $|1|$, cuando el valor absoluto es bajo se recurre a un contraste estadístico para saber la significancia de la correlación. Para lo cual el método más sencillo es una prueba estadística con t , el cual es un contraste de dos colas con $n - 2$ grados de libertad.

$$t = \frac{|r|\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$$

Donde la hipótesis nula es que no existe correlación entre y y x , Sí el valor calculado es mayor al valor tabulado, se rechaza la hipótesis nula y por tal se concluye que se tiene una correlación significativa.

Ya que se decidió trabajar con la recta de regresión lineal, se deben calcular algunos parámetros estadísticos como es el error de la pendiente y el error de la ordenada al origen.

$$s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_i^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}} \quad s_m = \frac{s_{y/x}}{\sqrt{\sum_i^n (x_i - \bar{x})^2}} \quad s_b = s_{y/x} \sqrt{\frac{\sum_i^n x_i^2}{n \sum_i^n (x_i - \bar{x})^2}}$$

Donde $s_{y/x}$ es el parámetro que estima los errores aleatorios sobre y , donde \hat{y}_i es el valor de y para el i ésimo punto de acuerdo a la ecuación de regresión lineal, s_m la desviación estándar de la pendiente y s_b la desviación estándar de la ordenada al origen.

Para el cálculo de límite de detección se tienen varios modelos, sin embargo la tendencia es definirlo como la concentración de analito que da una señal igual a la del blanco, definido como LD . Existe otro parámetro, el cual nos indica el límite inferior para medidas cuantitativas precisas, límite de cuantificación LC .

$$LD = y_b + 3s_b$$

$$LC = y_b + 10s_b$$

donde $y_b = b$ la ordenada al origen y s_b el valor de desviación estándar de la ordenada al origen. Durante un análisis por adiciones estándar se puede hacer esta consideración, tomar el valor de la ordenada al origen como el valor de la señal del blanco ⁵⁷.

Anexo 3. Imágenes de la celda montada



Celdas usadas para la determinación y recuperación de mercurio(II). Izquierda, ET disco de oro, EA barra de grafito y ER $Ag^0|AgCl(s)|KCl_{sat.}|$; derecha, ET disco de grafito, mismos EA y ER.

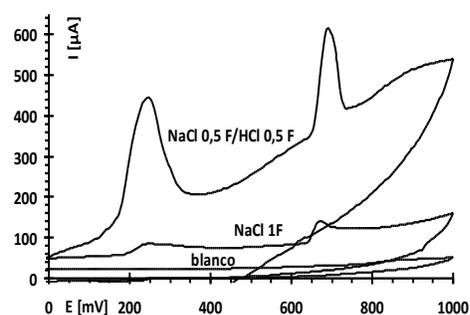
Anexo 4. Resumen y versión en extenso del trabajo presentado en el 45° CONGRESO MEXICANO DE QUÍMICA Y 29° CONGRESO NACIONAL DE EDUCACIÓN QUÍMICA

MODELADO BÁSICO DE UNA METODOLOGÍA PARA LA DETERMINACIÓN Y EXTRACCIÓN DE MERCURIO EN MUESTRAS SIMULADAS DE FITORREMEDIACIÓN CON *Phaseolus vulgaris*.

Elí Sánchez González, José Alejandro Baeza Reyes, Arturo de Jesús García Mendoza. Depto. Química Analítica, Facultad de Química, UNAM. Ciudad Universitaria, D.F., México, C.P. 04510. kunikleto@yahoo.com.mx

Resumen

Este trabajo propone y desarrolla una metodología para la recuperación de mercurio a partir de biomasa contaminada proveniente de un sistema de fitorremediación, con *Phaseolus vulgaris* como planta acumuladora. Etapas ensayadas: cultivo, secado, digestión, determinación y extracción. Se ensayaron tres electrodos de disco, oro y carbón vítreo para la determinación de mercurio, así como grafito para la recuperación de mercurio por electrodeposición en condiciones de amortiguamiento múltiple (figura).



I. Introducción

Los metales pesados, los metaloides y los radionuclidos pueden ser inmovilizados por las plantas por medio de fitoestabilización, fitoextracción o fitofiltración¹. Sin embargo no se metabolizan, sino que se acumulan en la biomasa², por lo que es necesario diseñar procedimientos de desecho o almacenamiento de esta biomasa contaminada. Se propone la extracción de los metales presentes con complejantes amables con el medio ambiente en condiciones de amortiguamiento múltiple y la posterior recuperación del metal por vía electroquímica³. Este trabajo propone una metodología analítica para la determinación⁴ y extracción de mercurio por vía electroquímica en muestras simuladas se fitorremediación.

II. Discusión y resultados

Los lotes levemente contaminados con mercurio se desarrollaron de manera muy similar al lote testigo, mientras que se observa una tendencia desfavorable en los lotes con mayor concentración de mercurio Figura1. Al parecer el mercurio(II) tendría un efecto de nutriente para la planta, ya que es notable que el crecimiento de las plantas respecto al lote testigo, posiblemente debido a una estimulación en la producción de fitoalexinas⁵.

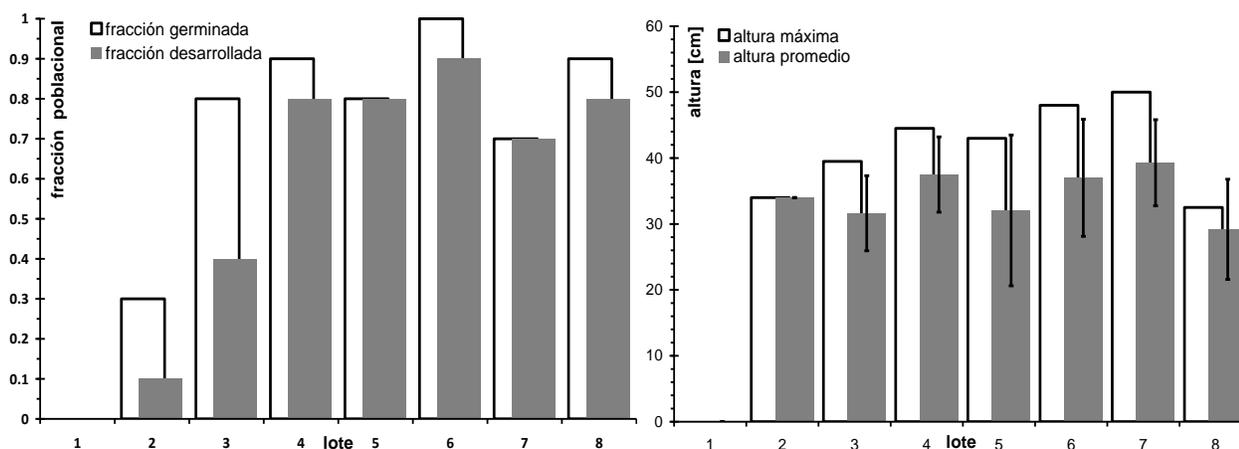


Figura1. Fracción poblacional de individuos germinados en comparación con los desarrollados (izquierda) y comparación de la altura alcanzada por los individuos desarrollados de cada lote (derecha), a los 15 días regados con la disoln. Hoagland-Arnon⁶ y diferentes concentraciones de mercurio(II) en cada lote: 1-1,0 mmol/L, 2-0,3 mmol/L, 3-0,1 mmol/L, 4-30 µmol/L, 5-10 µmol/L, 6-3,0 µmol/L, 7-1,0 µmol/L y 8-testigo.

Se realizó una curva de calibración por adiciones estándar sobre el electrodo de carbón vítreo en HClO_4 0,1 F por VCBC (voltamperometría cíclica de barrido catódico) Figura2. El pico de oxidación aparece bien definido a diferencia del pico de reducción que se asemeja a una onda, esto tal vez debido a un efecto de nucleación en el depósito de mercurio. Cuando se agrega matriz de digestión el aumento de la señal de oxidación disminuye y desaparece la señal de reducción, por lo que se decidió monitorear solo la señal de oxidación.

Se hicieron los ensayos por VRA (voltamperometría de redisolución anódica) sobre carbón vítreo, para lo cual se probaron varios tiempos de depósito antes de escoger los 15 min que se usaron en todos los experimentos.

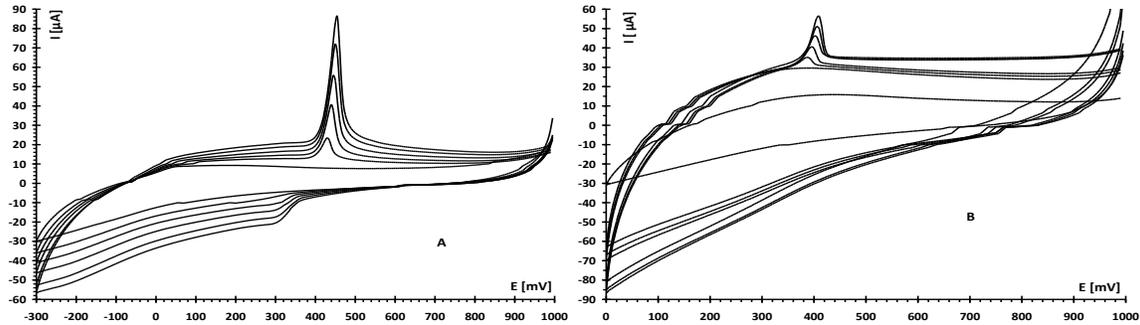


Figura2. Voltmaperogramas de una calibración de mercurio(II) por VCBC con un electrodo de carbón vítreo en HClO_4 0,1 mol/L por adiciones estándar. A: 40-200 ppm y B: 33-166ppm en presencia de matriz de digestión.

Se probó el electrodo de oro directamente con VDPRA (voltamperometría diferencial de pulsos de redisolución anódica), ya que de exponerlo a concentraciones mayores de mercurio tendríamos la formación de amalgamas Tabla1. En la determinación de mercurio para el lote 7 se obtuvieron 0,17 mg/kg (mercurio en masa seca), que concuerda con la cantidad determinada por espectrofotometría de absorción atómica 0,406 mg/kg. El mercurio en el lote 6 fue de 0,34 mg/kg y para el lote 5 de 2,97 mg/kg, coherente con el aumento en la concentración de mercurio de la disolución nutritiva.

Técnica	IC [ppm]	r^2	LD	LC
VCBC (Cv)	33-166	0,9855	22	73
VRA (Au)	0,4-2,8	0,9956	0,19	0,62
VDPRA (Au)	0,02-0,10	0,9912	0,01	0,04

Tabla1. Técnicas electroquímicas ensayadas para la determinación de mercurio(II) en HClO_4 0,1 F (IC: intervalo de concentración, LD: límite de detección y LC: límite de cuantificación).

Se probaron diferentes condiciones de electrodeposición de mercurio sobre grafito, obteniendo dos señales de oxidación alrededor de 250 mV y 675 mV, dando mejores resultados con cloruros y condiciones ácidas Figura3. Para las muestras digeridas se obtuvo una señal reversible cerca de 400 mV probablemente hierro u otro metal interferente.

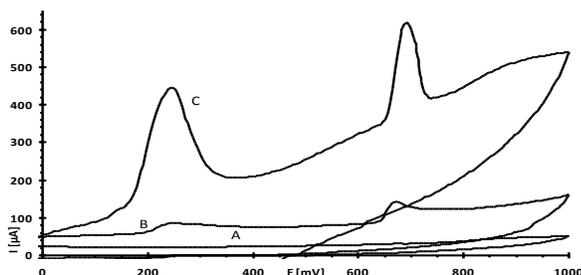


Figura3. Voltamperogramas del electrodeposito de mercurio sobre un electrodo grafito en KNO_3 0,1 mol/L, imponiendo -1,0 V por 15 min en una disolución con 60 ppm de mercurio(II). A: electrodo sin depósito, B: depósito en NaCl 1 mol/L y C: depósito en NaCl 0,5 mol/L /HCl 0,5 mol/L.

III. Materiales y métodos

Se utilizó un potenciostato modelo 626 Polarecord (Metrohm-Brinkmann) y un potenciostato/galvanostato modelo PGP201 (Radiometer-Copenhagen). Se usaron celdas de vidrio de 5 mL, tres electrodos de disco oro (D=3 mm), carbón vítreo (D=3 mm) y grafito (D=7,5 mm), barras de grafito (D=2 mm) como electrodos auxiliares y un electrodo de referencia $\text{Ag}^0|\text{AgCl}_{(s)}|\text{KCl}_{\text{sat.}}||$ construido en el laboratorio.

El cultivo simulado se hizo por hidroponía, usando semillas de fríjol negro (*Phaseolus vulgaris*). Se sembraron lotes de diez semillas, cada una cultivada por separado, en 0,5 g de algodón (sustrato), 5 mL al inicio y 1 mL para el riego diario de disolución nutritiva. Se colectaron tallos y hojas a los 15 días. Las muestras se almacenaron recipientes de plástico hasta su secado en microondas (7 min/lote). La digestión de las muestras se hizo por vía húmeda con 2 mL de HNO_3 concentrado por cada gramo de planta seca, adicionando una mezcla 1:1 de ácidos concentrados (HNO_3 y H_2SO_4) hasta completar la digestión. El residuo de digestión se llevó a un volumen final de 10,0 mL con HClO_4 0,1 mol/L.

Se elaboró una de calibración para la determinación de mercurio por VCBC sobre electrodo de carbón vítreo con y sin residuo de digestión para evaluar el efecto de matriz. También las curvas de calibración por VRA y VDPRA para los límites de detección y cuantificación para cada técnica, así como la determinación de muestras comparando una de ellas con el método de espectrofotometría de absorción atómica.

En los experimentos de electrodeposición con el electrodo de disco de grafito, se impuso un potencial reductor en presencia del mercurio, el mismo electrodo se caracterizó trazando su voltamperograma en KNO_3 0,1 mol/L.

IV. Conclusiones

Se logró estimar el intervalo de concentración donde se encuentra el límite de tolerancia de *Phaseolus vulgaris* al mercurio(II), en el intervalo de 64 - 213 mg/kg. Se obtuvieron los límites de detección y cuantificación para las técnicas utilizadas en la determinación de mercurio. Así como se logró determinar la concentración en las muestras simuladas, obteniendo resultados similares a los de absorción atómica. Se lograron determinar las condiciones para el electrodeposición de mercurio, demostrando la viabilidad de la metodología propuesta.

V. Agradecimientos

Al Colegio de Profesores de la Facultad de Química de la UNAM CoCoCol y la sección 024 de la AAPAUNAM por el apoyo otorgado a través de la cátedra Alberto Urbina del Raso 2010-2.

VI. Referencias

1. Salt, D. E.; Blaylock, M.; Kumar, N.P. B.A.; Dushenkov, V.; Ensley, B. D.; and Chet, I. *Phytoremediation: a novel strategy for removal of toxic metals from the environment using plants*. Biotechnology 13 (1995) 468-474.
2. Ehsan, M.; Molumeli, P. A.; Espinosa, V. E.; Baeza, A.; Pérez, J.; Soto, M.; Ojeda, E.; Jean, D.; Ruiz, A.; and Robledo, E. *Contamination Time Effect on Plant Available Fractions of Cadmium and Zinc in Mexican Clay Loam Soil*. Journal of Applied Sciences 7 (2007) 2380-2384.
3. Mayén-Mondragón, R.; Ibañez, J.G.; Vázquez R.C.; Baeza, A.; and Oropeza, M.T. *Electrochemical Recovery of Cadmium from Simulated Waste Nickel-Cadmium Battery Solutions*. Water Air Soil Pollut. 194 (2008) 45-55.

4. Andrews, Richard W.; Larochelle, John H.; and Johnson, Dennis C. *Determination of Trace Mercury(II) in 0.1 M Perchloric Acid by Differential Pulse Stripping Voltammetry at a Rotating Gold Disc Electrode*. Anal. Chem. 48 (1976) 212-214.
5. Hargreaves, J. A. *Investigations into the mechanism of mercuric chloride stimulated phytoalexin accumulation in Phaseolus vulgaris and Pisum sativum*. Physiological Plant Pathology 15 (1979) 279-287.
6. Hoagland, D. R.; and Arnon, D. I. *The water culture method for growing plants without soil*. University of California, Berkeley (1950), The College of Agriculture, Agricultural Experiment Station (Circular; 347).



SOCIEDAD QUÍMICA DE MÉXICO, A.C.

Extiende la presente

Constancia

A los autores: **ELÍ SÁNCHEZ GONZÁLEZ, DR. JOSÉ ALEJANDRO BAEZA REYES, Q. ARTURO DE JESÚS GARCÍA MENDOZA**

del trabajo intitulado: **MODELADO BÁSICO DE UNA METODOLOGÍA PARA LA DETERMINACIÓN Y EXTRACCIÓN DE MERCURIO EN MUESTRAS SIMULADAS DE FITOTRREMEDIACIÓN CON *Phaseolus vulgaris*.**

que presentaron en el marco de las actividades científicas del
45° CONGRESO MEXICANO DE QUÍMICA
29° CONGRESO NACIONAL DE EDUCACIÓN QUÍMICA

Celebrados en Riviera Maya, Q. Roo, del 18 al 22 de Septiembre, 2010

Dr. Eusebio Juristi Cosío
Presidente Nacional - SQM

Presidente de Sesión

Dra. Cecilia Anaya Berrios
Presidenta de Congresos



SOCIEDAD QUÍMICA DE MÉXICO, A.C.

otorga el presente

Diploma

al

EST. ELÍ SÁNCHEZ GONZÁLEZ, DR. JOSÉ ALEJANDRO BAEZA REYES, Q. ARTURO DE JESÚS GARCÍA MENDOZA

por haber obtenido MENCIÓN HONORÍFICA
en la categoría de octavo y noveno semestres y/o en proceso de titulación en el

CONCURSO NACIONAL DE CARTELES ESTUDIANTILES NIVEL LICENCIATURA
realizado en el marco de actividades científicas del

**45° CONGRESO MEXICANO DE QUÍMICA Y
29 CONGRESO NACIONAL DE EDUCACIÓN QUÍMICA**

con el trabajo intitulado:

MODELADO BÁSICO DE UNA METODOLOGÍA PARA LA DETERMINACIÓN Y EXTRACCIÓN DE
MERCURIO EN MUESTRAS SIMULADAS DE FITOTRREMEDIACIÓN CON *Phaseolus vulgaris*

Riviera Maya, Quintana Roo. 18 – 22 de septiembre del 2010.

Dr. Eusebio Juaristi Cosío
Presidente Nacional – SQM