

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA

DETERMINACION COMPARATIVA DE MERCURIO
EN PESCADO ENLATADO

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
Q U I M I C O
P R E S E N T A

MARIA EUGENIA BARRERA CASTAÑEDA

México, D. F.

47

1976



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

CLAS Resil
AGE 1946
FECHA _____
PROC U-49



QUIN-Q.

JURADO ASIGNADO:

Presidente: ING. ENRIQUE GARCIA GALEANO.
Vocal: ING. FRANCISCO FERNANDEZ NORIEGA.
Secretario: Q. CARLOS ROMO MEDRANO.
1er. Suplente: Q. PEDRO VILLANUEVA GONZALEZ.
2o. Suplente: Q. ARTURO PEREZ ALONSO.

Sitio donde se desarrolló el tema: Facultad de Química
U.N.A.M.

SUSTENTANTE:

MARIA EUGENIA BARRERA CASTAÑEDA

ASESOR:

ING. FRANCISCO FERNANDEZ NORIEGA.



A la memoria de mi madre.

A Omar, mi esposo y compañero que me ha sabido guiar para alcanzar una de las - metas que juntos nos trazamos.

A mi papá y hermanos, Esther, Fernando y Martín, con gran cariño y agradeci-- miento por su apoyo.

A Eugenia Azzise, Mago y Martín.

Con agradecimiento al Ing. Fernández,
por su ayuda y valiosos consejos para
la realización de esta tesis.

A las maestras Raquel Mariel y
Ángeles Rodríguez, a quienes
les agradezco infinitamente su
ayuda y orientación.

A los Laboratorios Nacionales de
Control de Bebidas y Medicamentos
de la S.S.A., por permitirme desa-
rrollar la parte experimental en
sus laboratorios.

Y a todas aquellas personas
que directa e indirectamente
contribuyeron a la realiza-
ción de la presente.

I N D I C E

CAPITULO	PAG.
I.- INTRODUCCION	1
II.- GENERALIDADES.....	35
III.- PARTE EXPERIMENTAL	81
IV.- CONCLUSIONES.....	113
V.- BIBLIOGRAFIA.....	117

C A P I T U L O I

I N T R O D U C C I O N



I N T R O D U C C I O N

Es evidente, que en la actualidad son multiples y complejos los sistemas que el hombre moderno maneja en su vida rutinaria, de la misma manera esta claro que de esas actividades se derivan numerosas fuentes que generan materiales que son descargados a la tierra, agua o aire de nuestro medio, esa acción contaminante tendría poca importancia si su magnitud no superara los mecanismos de equilibrio que la naturaleza posee para reparar los cambios que en ocasiones ella misma genera.

De la misma forma, no solo las cantidades, sino los tipos de contaminantes, actualmente se incrementan en forma impresionante, de tal manera que por una u otra causa, se plantean actualmente los dramas naturales ante los que el hombre mismo se sorprende. La preocupación universal para el control de esas alteraciones ambientales, tiene hoy múltiples apoyos y sin duda a través de los programas que se establecen para su control, será posible evitar situaciones de deterioro en el medio y en consecuencia en el hombre mismo.

A través de estudios desarrollados en diversas partes del mundo se ha llegado a establecer el reconocimiento y valoración de los niveles de contaminación, reviste particularidades específicas para cada caso, por lo que se ha establecido una lucha tecnológica para conseguir los procedimientos más adecuados y funcionales que permitan obtener con mayor propiedad la información que se requie-



re para conocer las magnitudes y características dinámicas de los contaminantes, que permitan fundamentar las bases sobre las que - habrá de planearse el control.

Dentro de las emisiones solidas, líquidas y gaseosas que - las fuentes artificiales manejadas por el humano, se vierten al - ambiente es posible establecer en forma simple una subdivisión -- que agrupa a los diversos tipos de productos contaminantes, así - tenemos aquellos que se descargan en la atmósfera en forma de par tículas comunmente conocidas como humos o polvos, los que se en-- vían en forma líquida generalmente llamados neblinas o rocios y - los que por sus características físicas, son nombrados como gases y vapores.

Respecto a las descargas que se efectuan en las aguas o -- tierras estas pueden presentarse como sólidos o líquidos, básicamente aunque ellos pueden mezclarse tambien o convertirse en sis-- temas sólidos suspendidos, o en gases disueltos, en líquidos o -- líquidos suspendidos en líquidos. Aquí se tratara solamente la con taminación en el agua y específicamente en los peces.

Por lo que respecta a las características químicas de los materiales, existe una gran complejidad ya que ellos pueden estar contituidos desde por unos cuantos elementos o sustancias sim-- ples, hasta verdaderos complejos orgánicos o inorgánicos creados en forma original en las fuentes, o bien, por reacciones que se - generen una vez enviados al medio, lo que conduce en ocasiones al establecimiento de sistemas aún no bien conocidos por el hombre.

Es posible expresar que dentro de los diferentes elementos compuestos que se consideran como contaminantes del medio, existe el grupo de los metales, y dentro de ellos algunos que por sus características particulares poseen acciones severas sobre el funcionamiento orgánico de los seres vivientes.

De ésta manera es posible citar al plomo mercurio, arsénico, el cadmio, el cobre, zinc, cromo y níquel entre otros como elementos metálicos de reconocida mayor posibilidad de dañar.

Tales metales cuando se emiten en forma elemental o formando compuestos ya sea a la atmosfera tierra o agua, poseen particulares características agresivas que lesionan al hombre, animales y vegetales, aún en concentraciones extremadamente bajas.

En la presente té debate particularmente se tratara la contaminación de mercurio en pescado enlatado (Atún).

Dentro de la metodología general para la valoración de los contaminantes metálicos que habrán de dar base a los tratamientos de control durante muchos años, existieron los procedimientos Analíticos de tipo humedo como técnicas universales para su identificación, cuantificación, tales procedimientos entre los que se encuentran las técnicas: Polarográficas, Colorimétricas, y Espectrofotométricas, no son sistemas sencillos y para las concentraciones mínimas que en algunos casos deben ser detectados tales métodos, se complican de tal forma, que su aplicación practica se hace difícil.

Afortunadamente en años recientes, la Tecnología de Absorción Atómica entro en su fase de aplicación comercial, y ha conseguido un desarrollo impresionante en el campo de las cuantificaciones metálicas y con ello una nueva era que simplifica al extremo, ese tipo de problema Analítico.

El objeto de la presente tesis, es evaluar comparativa --mente dos métodos; el Colorimétrico y el de Absorción Atómica y detectar la cantidad de mercurio que se encuentra en el Atún.

En el presente trabajo se hizo el Analisis de diez y seis muestras (dos de cada marca). Las muestras fueron compradas en diferentes supermercados. En conclusión se tratará de dar una ligera idea de los efectos toxicológicos, forma de contaminación y grado de ella en el hombre y en el Atún. Ojalá la presente tesis, ayude para poder tener una plena conciencia de lo que la contaminación ambiental en una sola de sus formas representa para la vida humana (1).

EFECTOS TOXICOLÓGICOS.

A principios de los años cincuenta los pescadores de la Bahía de Minamata, Japón fueron atacados por una misteriosa enfermedad neurológica, ésta producía debilitamiento progresivo de los músculos, pérdida de la vista, daño de otras funciones cerebrales, parálisis eventual y en algunos casos estados de coma y finalmente la muerte.

Las víctimas habían sufrido daños estructurales del cerebro, también pudo observarse que tanto los gatos, como las aves y los pescadores que se alimentaban principalmente con pescado mostraban síntomas de la enfermedad; esto condujo al descubrimiento de una concentración muy alta de mercurio en el pescado y mariscos de la Bahía, y se vió que la fuente del mercurio eran los desechos de una fábrica: desde entonces se han presentado otros casos alarmantes; en 1956 y 1960 en Irak afectó a cientos de campesinos que habían recibido semillas tratadas con fungicidas mercuriales; éstos se comieron las semillas en vez de sembrarlas; después se presentaron incidentes similares en Pakistán y en Guatemala.

En Suecia comenzó a notarse en 1960 el envenenamiento de aves y otros animales salvajes, aparentemente debido a semillas tratadas con mercurio; en 1967 la Junta Médica Sueca prohibió la venta de pescado en cuarenta lagos y ríos; después de comprobar que el pescado de esas aguas contenía una alta concentración

de metil mercurio. En 1970 surgió una gran alarma en América del Norte después de que un investigador noruego trabajando en Cánada, descubrió concentraciones de mercurio en el pescado del Lago St. Clair, se impusieron restricciones a la pesca y a la venta de pescado en muchas áreas. de Estados Unidos y Cánada y las --- agencias gubernamentales en ambos países comenzaron a controlar la descarga de desperdicios mercuriales en los rios y lagos.

Súbitamente casi de la noche a la mañana, la humanidad comenzó a temer al mercurio en el medio ambiente. Esta alarma es - comprensible pues siempre se ha considerado al mercurio como má- gico y en cierta forma siniestra. Las peculiaridades del mercu-- rio han sido reconocidas desde los tiempos medievales, cuando -- los alquimistas se interesaron en las propiedades fascinantes -- de éste elemento. Se conocieron tan bien sus propiedades toxi-- cas que algunos compuestos de mercurio llegaron a usarse como venenos. Existen evidencias de que Napoleón, Ivan el Terrible, y - Carlos II de Inglaterra pudieron haber muerto por envenenamiento por mercurio, ya sea en forma accidental o deliberada. Se sabe - que ya en 1700 un vecino del pueblo de Finali, Italia, trató de- pelear legalmente contra una fábrica de cloruro de mercurio, po que sus humos estaban matando a las personas del pueblo. El elemento puro en forma líquida no es venenoso, una persona puede ingerir- hasta una libra de mercurio, sin efectos adversos significativos Ni tampoco debe olvidarse que ciertos compuestos de mercurio se-

han usado con seguridad durante miles de años y todavía se prescriben algunos como medicamentos efectivos para infecciones o -desórdenes. También existen evidencias que desde tiempos prehistóricos el Cinabrio se extraía de minas; éste es un mineral, rojo brillante y se usó primero como pigmento, pero no fué sino -- hasta la edad media que los médicos y otros investigadores se interesaron en extraer el mercurio de la Mena para producir medicinas y otros compuestos útiles. Se cree que Hipócrates prescribió el uso del sulfúro de mercurio como medicina y probablemente éste fué uno de los primeros compuestos de un metal que se utili--zó terapéuticamente.

Hasta la edad media se comenzó a popularizar el uso en - X la medicina de cloruros, óxidos y otros compuestos inorgánicos y mezclas de mercurio; sintetizados por los Alquimistas. Se usó ampliamente el calomel ($HgCl$) como catártico y en el siglo XVI los com---puestos de mercurio se usaron en el tratamiento de Sífilis. Ha--cía el siglo XIX una gran cantidad de compuestos de mercurio se usaban en la medicina. Todavía se encuentran muchos en las Farmocopeas: los mas útiles hoy en día son los diuréticos. Se ha en--contrado que hasta en los compuestos orgánicos de mercurio hay - algunos que pueden usarse con seguridad. Se han suministrado a - un paciente hasta 78.5 g de mercurio en forma de un compuesto organico sin efectos letales nocivos.

El uso del Cinabrio como agente colorante y de los com--- X

puestos de mercurio en productos farmacéuticos, tienen un estricto control, no representa amenaza a la calidad del ambiente.

Sin embargo con el desarrollo de otras aplicaciones, particularmente en la industria y en la agricultura se presentan -- problemas serios.

Los principales productores de mercurio son España, cuyas minas en Almadén son las mas ricas en el mundo, Italia, URRS, -- China, México y Estados Unidos.

Como hemos anotado anteriormente el mercurio por si mismo ^x no es tóxico al hombre, sin embargo la inhalación de vapor de -- mercurio puede ser dañina. En casos agudos causa irritación y -- destrucción del tejido pulmonar, cuyos sintomas incluyen escalofrios, fiebre, tos, y una sensación de pesadez en el pecho y se han reportado algunas muertes, debido a tal exposición. Sin embargo estas exposiciones agudas no provienen generalmente por el ambiente, sino que se deben a algun accidente, como puede ser -- el calentamiento de algún compuesto de mercurio. Es más común la forma crónica de la lesión, debida a una exposición ocasional al vapor de mercurio como por ejemplo; entre los mineros de las minas de mercurio o entre los trabajadores de las sombrererías; en donde se emplea el nitrato de mercurio para procesar el fieltro. Estas exposiciones como se pudo comprobar entre los mineros, no-- incapacitan, producen temblores, inflamación de las encías e irritación general.

Desde hace mucho tiempo se sabe que las sales inorgánicas solubles de mercurio son tóxicas. El cloruro mercurico (HgCl_2) - que se ha usado como veneno; produce la corrosión del conducto intestinal (produciendo diarrea con sangre); daña los riñones;-- suprime la orina y llega a producir la muerte por falla de los riñones; cuando se toma en forma oral y en cantidad suficiente.

Su antiguo uso para el tratamiento de sífilis por administración oral en pequeñas dosis, no represento generalmente casos de envenenamiento.

El cloruro mercurioso es menos soluble que la sal mercuríca; y por lo tanto es menos peligrosa. Se usa todavía en la medicina; pero algunos de sus usos se han abandonado, ya que se encontro que causa un escosor doloroso en manos y pies, además --- de presentar otros síntomas en los niños. Dentro de los otros -- compuestos inorgánicos de mercurio que puedan ser potencialmente peligrosos estan algunos de los óxidos; como el óxido rojo; que se usa para pintar el fondo de los barcos. Sin embargo en general estos compuestos inorganicos no son factores importantes en la contaminación del medio ambiente común.

Lo que si causa cierta preocupación respecto del medio - ambientes la presencia de algunos compuestos orgánicos de mercurio, específicamente los alquilos; los compuestos metílicos y etílicos. En la Bahía de Minamata se identificaron como metil - mercurio a la substancia que había envenenado a los peces y a--

las personas. El grano que causó los brotes de enfermedad y muerte entre los campesinos de Irak había sido tratado con etil mercurio P-toluen sulfonanilina.

Desde hace algún tiempo se sabe que los compuestos alquílicos mercuricos pueden causar retraso mental congénito, y experimentos recientes de laboratorio han demostrado que pueden producir anomalías en los cromosomas, y a través de una "Intoxicación" del feto en el útero, pueden producir parálisis cerebral. Los compuestos alquílicos de mercurio atacan las células cerebrales, que son particularmente susceptibles al daño por ésta forma de mercurio. La base química de éste efecto parece radicar en la gran afinidad del mercurio por el azufre; particularmente por los grupos sulfhidrilos (S-H) de las proteínas (teniendo una afinidad similar a la del arsénico y plomo). Unido a las proteínas de la membrana celular, el mercurio puede alterar la distribución de los iones, cambiar los potenciales eléctricos y por lo tanto interferir con el movimiento de fluidos a través de la membrana. Existen también indicaciones de que la unión del Mercurio con las proteínas distorsiona la operación normal de las estructuras subcelulares como la de la mitocondria y los lisosomas.

Parece que los compuestos alquílicos de mercurio son especialmente peligrosos, debido a que el mercurio está firmemente unido a un átomo de carbono, por lo que la molécula no se separa y puede mantener su acción destructiva por semanas o meses. En este aspecto difiere de los compuestos inorgánicos o fenólicos -

(arílicos) en que puede explicar el daño permanente que producen a los tejidos cerebrales, mientras que los daños causados por los compuestos inorgánicos o arílicos es casi invariablemente reversible.

En un tiempo se pensó que los compuestos arílicos, pudieran actuar como alquílicos; sin embargo en una serie de estudios en 1961 en la Escuela de Salud Pública de la Universidad de Columbia, se encontró que los trabajadores que manejaban continuamente compuestos fenólicos de mercurio y que se exponían mucho más del límite de seguridad, no mostraron ninguna evidencia de efectos tóxicos.

Habiendo ya examinado la naturaleza de la "amenaza" del mercurio observemos ahora el grado de exposición del hombre y su respuesta a éste factor.

Sin lugar a dudas la mayor fuente de ingestión de mercurio para el hombre es su comida. Alfred E. Stock inició en Alemania en los años treinta análisis de la concentración de mercurio en los alimentos y desde entonces se han tenido otros estudios de éste tipo. Una comisión conjunta de la FAO y de la OMS (Organización Mundial de la Salud), propuso en 1963 que el límite superior permisible de mercurio en los alimentos (exceptuando pescado y mariscos) debiera de ser de 0.05 ppm. ; sin embargo no existe todavía una base firme para determinar lo que sería un nivel seguro. Aunque la FAO da un límite para pescado de 0.5 ppm.

Además de la comida, existen otras fuentes de exposición al mercurio. Se usa muy frecuentemente en antisépticos, preservativos de pinturas cera, pulimentos, suavizadores de telas, filtros para aire acondicionado detergentes para suprimir el enmohecimiento y sin duda algunas otras fuentes de las que no estamos conscientes. No es sorprendente encontrar que de un 20-25% de la población normal, personas que aparentemente no han tenido una exposición médica u ocupacional al mercurio muestran en sus fluidos corporales cantidades fácilmente detectables de mercurio. Se han hecho algunos estudios a este respecto, incluyendo una investigación internacional bastante intensa que se llevó a cabo en Colombia en 1961-1963, como un proyecto conjunto con la OMS. Al analizar 1107 muestras de orina recogidas de sujetos normales en 15 países se encontró que el contenido de mercurio en la orina, excepto en casos aislados, no era mayor de 20-25 ppb. Exámenes similares de muestras nos indican que la concentración alta de mercurio en sujetos normales era de 30 a 50 ppb. Los análisis en tejidos humanos, en una autopsia, indican que en los órganos del cuerpo están presentes trazas similares de mercurio.

Es importante considerar estos descubrimientos dentro del contexto de la relación evolutiva de la vida en nuestro planeta con la presencia de mercurio.

Sin lugar a dudas, el elemento ha estado desde el principio en el mar en donde se originó la vida, y es probable que todas las plantas y los animales lleven trazas de mercurio como una he-

rencia de sus ancestros primitivos. El hombre al estar a la cabeza de la cadena alimenticia, ha aumentado esta herencia, ingiriendo - pescado y otras formas de comida, que tambien concentren el mercurio. A través de los millones de años, es posible que haya creado una tolerancia aumentada hacia el mercurio. No es poco frecuente - que la tolerancia hacia una substancia potente se convierta en una dependencia, y es razonable suponer que el hombre, y otras formas de vida dependan ahora del mercurio como uno de los elementos im--portantes. El que los efectos benéficos o dañinos, depende decisivamente de la forma en que se incorpora a los tejidos, de la dosis y probablemente de otros factores; por ejemplo se ha encontrado -- que el elemento arsénico, que es altamente toxico, está presente - en camarones sanos en concentraciones cercanas a las 200 ppm. en forma de trimetilarsénico. En éste caso aparentemente la metila---ción suprime la toxicidad del elemento. El comportamiento bioquími--co del mercurio es muy parecido al del arsénico lo que sugiere que en los peces se pueden encontrar tanto las formas toxicas como las inofensivas.

La preocupación debe dirigirse a cualquier desorden del ambiente que pueda alterar el balance natural del mercurio en rela--ción a otras substancias, o que generen formas viruléntas de com--puestos de mercurio en el caso del pescado de la bahía del minamata, estaban presentes estos dos factores. El deshecho contaminante de la planta química contenía metil mercurio y el mercurio elementos del deshecho era metilado por los microorganismos del lodo del

del fondo de la Bahía. Esta conversión estaba apoyada por el enriquecimiento del agua con una alta concentración de mercurio y de contaminantes orgánicos que promovían el crecimiento de las bacterias metilantes. El resultado fue la acumulación de metil mercurio en los peces en concentraciones tan altas hasta de 50 ppm (base húmeda) que es 100 veces la concentración de mercurio total que actualmente se acepta como segura en E.U.A. y Canada. El efecto en los pescadores y sus familias se debió al hecho de que dieta consistía principalmente de pescado de la Bahía y que pudo haber sido deficiente en algunos nutrientes esenciales; se sabe que las deficiencias en la dieta aumentan los efectos adversos de los agentes tóxicos.

Haciendo una revisión de los hechos respecto al problema del mercurio en el ambiente, es el de tratarlo aplicando para ello las técnicas de la Epidemiología, la medicina preventiva, Salud pública e industrial, que han sido útiles para combatir los peligros del pasado. Debiera implantarse un sistema que controlara frecuentemente el ambiente, detectando aumentos importantes de la contaminación por mercurio. Debiera investigarse los niveles y formas de contaminación mercurial que representan una amenaza para la salud.

Deben desarrollarse técnicas de muestreo de la población para detectar envenenamientos por mercurio. Deben aplicarse controles para frenar la eliminación de desechos de mercurio poten-

cialmente dañinos, en el lugar de origen; deben reemplazarse en la industria y en la agricultura los compuestos tóxicos de mercurio por sustitutos menos tóxicos. Para implementar un programa como éste, se necesita desde luego una educación realista del público y una acción legislativa con un reforzamiento adecuado. Sería tonto declarar totalmente la guerra al mercurio; la evidencia de la evolución nos sugiere que tener muy poco mercurio en el ambiente pudiera ser tan desastroso como tener mucho. Como en el caso del mercurio como en los demás aspectos de nuestro ambiente el camino mas adecuado es el de tratar de entender y de mantener el balance de la naturaleza en la naturaleza en la que ha prosperado la vida en nuestro planeta. (2).

Métodos de Determinación de Mercurio.

Entre los métodos analíticos para determinar mercurio más usados en la actualidad se encuentran. El método tradicional por Colorimetria y últimamente se han desarrollado otros métodos de gran exactitud y permite detectar mercurio en mínimas cantidades, este método es el de Absorción Atómica, la cual ha venido a crear una nueva técnica de Análisis muy confiable en sus resultados y además de ser muy sencilla.

Otro método que tambien se ha venido desarrollando ha sido la tecnica por activación Neutrónica; pero hasta ahora, solo la Absorción Atómica ha venido a substituir al método Colorimetrico

por su accesibilidad y rapidez en las determinaciones.

PRINCIPIOS GENERALES DE ABSORCION ATOMICA.

Introducción.- Esta técnica Analítica, es una de las que más se ha desarrollado en los últimos años debido a una serie de ventajas que presenta, especialmente en la determinación de cationes en solución. Desde el punto de vista Analítico las principales ventajas de la Absorción Atómica son que no presenta interferencia de tipo espectral y muy pocas de tipo químico, proporcionando mayor sensibilidad y exactitud que la mayoría de las técnicas para Análisis de soluciones. Por otra parte en general no requiere separaciones químicas y no presenta problemas en la interpretación de resultados. Donde más éxito está teniendo es en Análisis de Soluciones, especialmente cuando se trata de un elevado número de muestras.

Además de los problemas clásicos de la industria y de la investigación, está siendo muy aplicada en química Biológica en Toxicología y química Agrícola. Incluso es competitiva en campos como la Metalurgia que generalmente había utilizado hasta el presente otras técnicas analíticas, y ello es debido al ahorro de tiempo y de dinero y a su falta de interferencias.

Aunque el fundamento físico de la técnica se conocía desde hacía mucho tiempo ya que las rayas de Fraunhofer, descubiertas hace más de 150 años, deben su origen a los átomos libres presentes en la cromosfera del sol que absorben frecuencias determinadas

de la luz que procede del interior de dicho astro, sin embargo --- hasta 1939, no se describe un instrumento de absorción atómica pa--- ra la determinación del mercurio por Woodson, midiendo la absor--- ción provocada por los átomos de dicho elemento en la luz proceden--- te de una lámpara del mismo. La consagración de la Absorción Atómi--- ca como técnica analítica se debe al Dr. Alan Walsh quién en 1955--- publica su primer trabajo describiendo una instrumentación prácti--- ca adecuada.

FUNDAMENTO TEORICO.

La Absorción Atómica, está muy relacionada con la Fotome--- tría de flama pero con una diferencia fundamental: En esta última--- se mide la luz emitida por los átomos excitados cuando vuelven al - estado fundamental mientras que en la primera se mide la luz absor--- bida por los átomos en estado fundamental cuando pasan a un esta--- do excitado.

La intensidad de emisión de una línea el espectro debida -- a la transición de un electrón de un estado excitado, j , de ener--- gía de excitación E_j , al estado fundamental de energía cero es -- proporcional al número de átomos N_j , en el estado excitado. N_j -- puede relacionarse con el número de átomos en estado fundamental - N_0 por la ecuación:

$$N_j = \left(N_0 \frac{P_j}{P_0} \right) e^{-E_j / KT}$$

donde P_j y P_0 son los pesos estadísticos de los átomos en estado excitado y fundamental respectivamente.

La relación del número de átomos N_j/N_0 en equilibrio térmico a la temperatura T , entre dos estados de energía E_0 y E_j , o sea para una determinada línea de resonancia.

Se observa en casi todos los casos que el número de átomos en el estado fundamental es muy grande comparado con el del estado excitado, y la razón entre ellos solo llega a ser muy apreciable a altas temperaturas y en transición de líneas de resonancia de gran longitud de onda. Las líneas de resonancia más intensas - aparecen por debajo de los 6000 Å, pero como hemos de limitar a vapores atómicos a temperaturas inferiores a 3000°K, la fracción de átomos en los niveles de energía mayor que E_j es aún menor, N_j será despreciable frente a N_0 , y N_0 será aproximadamente igual al número total de átomos N , así, mientras el número de átomos -- excitados varía exponencialmente con la temperatura, el número de átomos en el estado fundamental permanece prácticamente constante.

Si consideramos un rayo paralelo, de intensidad I_0 , con una frecuencia ν , que pase a través de un vapor atómico de espesor de 1 cm. la intensidad de radiaciones transmitida I_ν , de coeficiente de absorción K_ν , vendrá definida por:

$$I = I_0 e^{-K_\nu}$$

El valor K_{ν} , varía con ν ya que la línea de absorción tiene una anchura finita, pero según la teoría clásica de la dispersión, la integral de absorción:

$$\left(\int K_{\nu} d\nu \right)$$

tiene un valor:

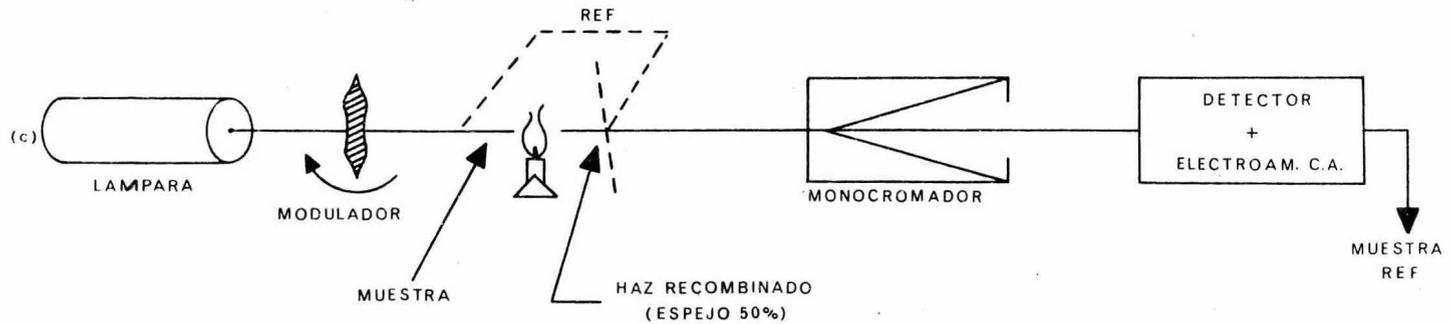
$$\int K_{\nu} d\nu = \frac{ne^2}{mc} N_{\nu} f$$

donde e es la masa del electrón, n la masa electrónica, c la velocidad de la luz y N_{ν} el número de átomos por cm^3 que son capaces de absorber la radiación de frecuencia ν y f la eficacia del oscilador, esto es, el promedio de electrones por átomo capaces de ser excitados por la radiación incidente. Así para una transición iniciada en el estado fundamental, donde N_{ν} sea por convenio en la práctica, igual a N_0 , la integral de la absorción será proporcional a la concentración de átomos libres en el medio absorbente e independiente de la temperatura del vapor.

Esquema General de un Sistema de Absorción Atómica.

Los tres principales componentes de un equipo de absorción atómica son los siguientes: La llama o dispositivo para producir vapor atómico, la lámpara espectral o fuente de radiación que emite el espectro del elemento, y el equipo para aislar y medir las líneas de resonancia.

La luz que procede de una lámpara de cátodo hueco pasa a través de la llama, después se aísla la línea de resonancia por medio de un monocromador o de un filtro y se mide en un sistema



**ESQUEMA GENERAL DE UN
ESPECTRO-FOTOMETRO DE
ABSORCION ATOMICA**

detector, a este tipo de sistema se le llama haz único de corriente continua debido a que tanto el haz procedente de la llama como el de la lámpara no están modulados y por tanto originan corriente continua en el detector. Debido a esto surgieron problemas con este sistema de corriente continua al aplicarlo en la práctica, - debido a la emisión procedente de la llama. Más universal es el sistema representado en la figura (1), donde la luz de la lámpara está modulada pero no la de la llama, puesto que la luz modulada produce una corriente alterna en el detector, este sistema se conoce como sistema de corriente alterna de haz único. Un sistema electrónico apropiado amplifica solamente la corriente alterna evitando la luz procedente de la llama. En el sistema de haz único-- no es el mechero el factor limitativo sino la estabilidad de la lámpara de cátodo hueco que conviene que funcione previamente al menos media hora para proporcionar una emisión estable.

Los sistemas de doble haz pueden evitar los efectos de esta variación de lámpara suministrando una línea base estable casi inmediatamente de su puesta en marcha, lo que proporciona una precisión analítica superior.

La vaporización de la muestra y su atomización es probablemente el fenómeno más importante de la técnica de Absorción Atómica. En este aspecto se ha aprovechado la experiencia que se tenía en la técnica de fotometría de llama. Los mecheros y atomizadores que se han de utilizar han de cumplir los siguientes requisitos:

- 1.- Estabilidad. Para una concentración dada la absorción debe permanecer constante, a lo largo del día.
- 2.- Sensibilidad. Debe de proporcionar una absorción considerable para una concentración dada.
- 3.- Silencioso. El mechero debe permanecer inmóvil y carecer de - excesivo ruido para evitar variaciones del registro.
- 4.- Posibilidad de analizar soluciones concentradas. Generalmente el límite de detección depende de la concentración de las soluciones que pueden ser introducidas en la llama.
- 5.- Libre de Memoria. El contenido de una muestra no debe afectar al resultado de la siguiente.
- 6.- Libre de Fondo. Debe existir muy poco o ninguna absorción -- procedente de la propia llama o de soluciones en blanco que - esten exentas del elemento a analizar.
- 7.- Linealidad. Las curvas de trabajo deben ser rectas en un in--tervalo tan grande como sea posible.
- 8.- Versatilidad. Con un mismo mechero deben poderse manejar gran número de elementos y tipos de muestra.
- 9.- Rapidez de respuesta. Para determinados casos especiales debe obtenerse la absorción completa rápidamente después de haber introducido la muestra.
- 10.- Emisión mínima. En un sistema de corriente alterna la emisión que proceda del mechero no debe de introducir errores.

Existen otras condiciones secundarias como son la facilidad - de limpieza, de ajuste y la resistencia a la corrosión.

FOTOMETRIA DE ABSORCION

Desde que el color ha sido reconocido como una característica de ciertos materiales bajo algunas condiciones dadas, se le ha -- utilizado como un medio de identificación. Como por ejemplo, los esquemas de Analisis cualitativos han recurrido tradicionalmente, a pruebas de color, tales como observar el tono de diferentes reacciones químicas para confirmar la presencia de diferentes elementos o de iones. Sin embargo las pruebas de este tipo, están -- inherentemente limitadas tanto en precisión como en alcance, ya -- que se basan en el ojo humano como detector de energía radiante; -- cuando éste falla, aquéllos lo hacen tambien. Un tributo a la ingeniosidad del químico analítico lo constituye el hecho de que se haya establecido un número tan grande de pruebas visuales, tanto cualitativas como cuantitativas, dignas de confianza.

La perfección de otros detectores de radiación junto con -- el adelanto general en la instrumentación, ha producido una gran extensión de las técnicas de este campo. En alcance, estos cubren ahora, el espectro electromagnetico (EM) desde el lejano infrarojo (IR) hasta la totalidad del ultravioleta (UV).

Puesto que éstas técnicas se ocupan de la medición de la -- intensidad o poder de radiación, como función de la longitud de onda puede usarse el término fotométrico o espectrofotométrico -- para identificarlos.

Las técnicas fotométricas están basadas en la capacidad --

que tienen las sustancias de interactuar con frecuencias de radiación características. Puesto que cada especie aislada de ión, átomo o molécula exhibirá un conjunto de niveles de energía definidos, absorberá solo las frecuencias (EM) que corresponden a la excitación de un nivel a otro.

El espectro de absorción de una sustancia desconocida puede medirse mediante análisis cualitativos para establecer su identidad.

LEY DE BEER.

En sus estudios muy tempranos de la absorción de radiación Beer postuló que la radiación de energía radiante de un haz de radiación monocromática era proporcional a la intensidad o potencia del haz y a la cantidad de sustancia absorbente situada en su trayectoria. Estas hipótesis condujeron directamente a la formulación de la Ley de Beer dada en la ecuación (7); pero es interesante justificar estas hipótesis en términos de la moderna descripción de la energía radiante.

Consideramos el bloque de materia absorbente (sólida, líquida o gaseosa). Un haz de radiación paralela de potencia P_0 incide en el bloque perpendicular a una superficie; después de atravesar un trecho b del material su potencia se reduce a P por absorción. Consideremos ahora una sección transversal del bloque de área S y espesor infinitesimal dx . Dentro de ésta sección hay dn partículas absorbentes (moléculas o iones); asociada con cada

partícula podemos imaginar una superficie en la que puede producirse captura de fotones. Esto es, si un fotón llega por casualidad a una de éstas áreas se producirá absorción inmediatamente. El área total proyectada de éstas superficies de captura en la selección designa como dS y la probabilidad de captura de un solo fotón que pasa por la sección es la razón del área de captura al área total, dS/S . En un promedio estadístico esta razón representa la probabilidad de captura de fotones dentro de la sección.

La potencia del haz que penetra en la sección P_x es proporcional al número de fotones por centímetro cuadrado por segundo y dP_x representa la cantidad eliminada de la sección; la fracción capturada es entonces $-dP_x/P_x$ y esta razón es en promedio igual a la probabilidad de captura. Al término se le da un signo menos para indicar que P experimenta reducción. Así:

$$\frac{-dP_x}{P_x} = \frac{dS}{S} \quad (1)$$

Recordemos ahora que dS es la suma de las áreas de captura para cada partícula de la sección; por consiguiente, debe ser proporcional al número de partículas, o :

$$dS = \alpha dn \quad (2)$$

Donde dn es el número de partículas y α es una constante de proporcionalidad que puede denominarse sección transversal de cap-

tura. Combinando las ecuaciones (1) y (2) y sumando el intervalo de cero a n, obtenemos:

$$- \int_{P_0}^P \frac{dP}{P_x} = \int_0^n \frac{dn}{S}$$

la integración da

$$- \ln P/P_0 = \alpha n/S$$

Conviertiendo en logaritmos de base 10 e invirtiendo la fracción para cambiar el signo, tenemos:

$$\text{Log } P/P_0 = \frac{\alpha n}{2.303 S} \quad (3)$$

donde n es el número total de partículas existentes en el bloque.

El área de la sección transversal S puede expresarse en términos del volumen del bloque V y su longitud b. Así:

$$S = \frac{V}{b} \text{ cm}^2$$

Substituyendo ésta cantidad en (3) dá

$$\log P_0/P = \frac{nb}{2.303 V} \quad (4)$$

Podemos convertir fácilmente n/V en concentración en moles por litro; es decir:

$$c = \frac{1000 n}{6.02 \times 10^{23} V} \quad \text{mol/litro}$$

Substituyendo en (4) da:

$$\text{Log } P_0 / P = \frac{66.02 \times 10^{23} \epsilon bc}{2.303 \times 1000}$$

Finalmente, combinando las constantes de ésta ecuación en un solo término ϵ , obtenemos:

$$\text{log } P_0 / P = \epsilon bc = A \quad (5)$$

La ecuación (5) es la Ley fundamental que rige la absorción de todos tipos de radiación electromagnética; se aplica no solo a soluciones, sino a gases y sólidos también. Se conoce como Ley Lambert-Beer, Ley Bourger-Beer, ó mas comunmente Ley Beer. El término logarítmico situado al lado izquierdo de la ecuación se llama Absorbencia, y se le asigna el símbolo A. La constante se llama absorbencia molar cuando la concentración c se expresa en moles de absorbente por litro, y a la longitud de la trayectoria base da en centímetros; se llama simplemente absortividad, y se le da el símbolo a, cuando se usan otras unidades para concentración o longitud de trayectoria.

La ecuación (5) indica que la absorbencia de una solución es directamente proporcional a la concentración de especies ab---

sorbentes cuando la longitud de la trayectoria luminosa es fija;
 un análisis cuantitativo basado en la absorción de radiación ha
 ce uso de una de éstas relaciones o de las dos.

La ley de Beer se aplica a una solución que contiene más -
 de una clase de sustancia absorbente, siempre que no haya inter-
 acción entre las distintas especies. Así para un sistema de múlti-
 ples componentes podemos escribir:

$$A_{\text{total}} = A_1 + A_2 + \dots + A_n \quad (6)$$

$$= \epsilon_1^{bc} + \epsilon_2^{bc} + \dots + \epsilon_n^{bc}$$

donde los subíndices designan componentes absorbentes 1, 2,n.

Medición de la Absorción.

La Ley de Beer, según la ecuación (5), no es directamente-
 aplicable al análisis químico. Tal como se define ni P ni P₀ pue-
 den medirse fácilmente en el laboratorio, porque la solución que-
 se estudia debe mantenerse en alguna clase de recipiente. Es ine-
 vitable la acción mutua entre la radiación y las paredes, produ-
 ciendo una pérdida de potencia en cada superficie de separación -
 como consecuencia de reflexión o posiblemente absorción. Además,-
 el haz puede sufrir una disminución de potencia durante su paso -
 por la solución, como resultado de dispersión por moléculas gran-
 des o falta de homogeneidad.

Para corregir estos efectos, se compara la potencia del haz transmitido por la solución que nos interesa con la potencia de un haz que atravieza un recipiente idéntico que contiene el disolvente de la muestra. Puede calcularse entonces una absorbencia experimental que se aproxima mucho a la verdadera absorbencia de la solución; es decir:

$$A = \log P_{\text{disolventes}} / P_{\text{solución}} = \log P_0 / P \quad (7)$$

El término, P_0 , cuando se use en lo sucesivo, se referirá a la potencia de un haz de radiación después de atravesar un recipiente que contiene el disolvente que nos interesa.

En años recientes se ha intentado elaborar una nomenclatura estandar para las distintas cantidades relacionadas con la absorción de radiación. Las recomendaciones de la American Society for Testing Materials son los que se encuentran frecuentemente. Un término importante es la transmitancia (T) que se define como:

$$T = P / P_0$$

En la siguiente tabla se dan los nombres y símbolos más usados en la medición de la absorbancia.

Término y Símbolo	Definición	Nombre y Símbolo Alternativos.
Potencia de radiación P, P ₀	Energía de radiación que llega a un área dada de un detector por segundo.	Intensidad de radiación I, I ₀
Absorbancia, A	$\log P_0/P$	Densidad Optica D;- extinción; E
Transmitancia, T	P/P_0	Transmisión, T
Longitud de la trayectoria de radiación, en cm., b	-	l, d
Absortividad molar, ϵ	A/bc	Coefficiente de extinción molar.
Absortividad, a	A/bc	Coefficiente de extinción, K

La transmitancia es la fracción de radiación incidente transmitida por la solución; se expresa a menudo como porcentaje. La transmitancia se relaciona con la Absorbancia como sigue:

$$-\log T = A$$

LIMITACIONES A LA LEY DE BEER.

La relación lineal entre absorbancia y longitud de trayectoria en una concentración fija de sustancias absorbentes es una generalización para la cual no se conocen excepciones. Por el contrario, se encuentran frecuentemente desviaciones con relación a la proporcionalidad directa entre absorbancia y concentración medidas cuando b es constante. Algunas de éstas desviaciones son de naturaleza tan fundamental que representan limitaciones reales --

de la ley; otras ocurren como consecuencia de la forma en que se hacen las mediciones de absorbancia o como resultado de cambios químicos asociados con cambios en la concentración; éstas dos últimas se conocen algunas veces, respectivamente como desviaciones instrumentales y como desviaciones químicas.

Limitaciones reales a la Ley de Beer.- La ley de Beer describe bien el comportamiento de absorción de soluciones diluidas; solamente en éste sentido es una ley limitativa. En altas concentraciones la distancia media entre las especies que causan absorción disminuye hasta el punto en que cada una afecta a la distribución de carga de sus vecinas.

Esta interacción, a su vez, puede alterar su capacidad para absorber una longitud de onda de radiación dada. Puesto que el grado de interacción depende de la concentración, la ocurrencia de éste fenómeno causa desviaciones de la relación lineal entre absorbancia y concentración.

Desviaciones de la Ley de Beer se producen también porque ϵ depende del índice de refracción de la solución.

Desviaciones químicas.- Desviaciones evidentes de la Ley de Beer se encuentran frecuentemente como consecuencia de asociación, disociación o reacción de la sustancia absorbente con el disolvente.

Desviación instrumental.- Estricto cumplimiento de la Ley de Beer por un sistema absorbente solo se observa cuando la radiación empleada es monocromática. Esta observación es otra mani

festación del carácter limitado de la relación. El uso de un haz monocromático para instrumentos de absorbancia raramente es práctico y la radiación policromática puede conducir a desviaciones de la Ley de Beer.

Los experimentos demuestran que no son apreciables las desviaciones de la ley de Beer resultantes del uso de un haz policromático, siempre que la radiación usada no abarque una región del espectro en la que el absorbedor exhibe grandes cambios en absorbencia como una función de la longitud de onda.

Componentes de instrumentos para mediciones de Absorción.

Los instrumentos que miden la Transmitancia o Absorbencia de soluciones contienen cinco componentes básicos: 1) Una fuente estable de energía radiante que puede variar de intensidad; 2) Un artificio que permite el empleo de una región restringida de longitudes de onda; 3) Recipientes transparentes para muestra y disolvente; 4) Un detector de radiación o transductor que convierte la energía radiante en señal mensurable (generalmente eléctrica), y 5) Un indicador de señal.

Los instrumentos de absorción se clasifican por el tipo de artificio empleado para restringir radiación a una región limitada del espectro. Un espectrofotométrico tiene un monocromador de prisma o réticulo que permite el uso de una estrecha banda de radiación que puede modificarse continuamente en su longitud de onda. Los espectrofómetros se clasifican además basándose

en la región de longitud de onda para la que ha sido diseñados: -
es decir, como instrumentos infrarrojos, visibles ultravioletas, o
de rayos X. Los espectrofotómetros mas sencillos y menos costo---
sos son de lectura directa y emplean un solo haz con un monocro--
mador reticular. En el otro extremo de la escala de precios se -
encuentran instrumentos de registro de doble haz que emplean monog
cromadores dobles de alta calidad.

C A P I T U L O I I

G E N E R A L I D A D E S

G E N E R A L I D A D E S ✕

El mercurio es un elemento natural presente normalmente en minerales, rocas, tierra, aire, plantas y animales. La fuente natural del mercurio se debe en gran parte a la alta presión de vapor de este elemento y sus componentes. El mercurio puede dividirse dentro de dos grandes categorías de compuestos orgánicos e -- inorgánicos; los compuestos inorgánicos contienen al mercurio como metal líquido plateado así como un sin número de compuestos -- dentro de los cuáles se encuentra presente el mercurio en una de sus dos formas como ión mercurioso o como ión mercúrico. La segunda categoría que contiene mercurio orgánico incluye compuestos -- químicos que contienen átomos de carbono que están covalentemente ligados, a un átomo de mercurio. Estos compuestos relativamente -- nuevos fueron introducidos en números cada vez mayores a finales del siglo.

Estos compuestos orgánicos a su vez pueden ser subdivididos en dos categorías principales: los compuestos de mercurio arílicos y los alquílicos; de estos dos debido a su resistencia a degradarse, los alquílicos son considerados generalmente como una -- amenaza para el hombre y su medio ambiente, que los de arilo o -- cualquiera de los de mercurio inorgánico,

Hasta hace poco la principal fuente de mercurio en el medio ambiente ha sido la erosión y el escurrimiento del mercurio -- metálico contenido en formaciones geológicas por lluvia que tam --

bién transporta el mercurio a corrientes de agua y lagos por medio de la erosión de tierra y deslaves de agua, Desde la revolución industrial, cantidades cada vez mayores de mercurio se han perdido - en el medio ambiente, de productos de desperdicio de mercurio como resultado de procesos de manufactura que lo utilizan o de la disposición impropia de productos industriales o de consumo doméstico - que contienen compuestos de mercurio. El mercurio se consume en la manufactura de aparatos eléctricos, cloro, sosa caústica, instrumentos de control industrial, pintura, farmacia, cosméticos, pulpa de papel, fungicidas agrícolas y amalgamas dentales así como en otros muchos productos menores industriales y de consumo doméstico. Las propiedades amalgamantes y catalíticas del mercurio y sus compuestos son responsables de muchos de los usos industriales adicionales.

En áreas urbanas e industriales los servicios sanitarios de desague sirven como un sistema conveniente para el desague de los productos que contienen mercurio. Estas descargas de mercurio son consideradas pequeñas individualmente; sin embargo todas juntas -- son potencialmente grandes cantidades de mercurio que son descargadas en las corrientes de agua que reciben el afluente de las plantas de tratamiento de drenaje. El contenido total de mercurio del sistema de drenaje y cloacas es el resultado de todos los usos incidentales que se hacen de los compuestos de mercurio por las industrias y el consumo doméstico. Aproximadamente en una área urbana

con un millón de población son desechadas en el agua de 400 a 1000 libras de mercurio cada año.

Por otro lado grandes cantidades de mercurio se desprenden en el medio ambiente a través de la combustión u otra utilidad de combustibles fósiles así como a través de la fundición de minerales para recobrar metales como cobre, plomo y zinc. El carbón contiene pequeñas cantidades de muchos de los elementos conocidos -- que no son comunmente reportados en los analisis normales de cenizas. Cuando los carbonos que contienen mercurio son utilizados en procesos de cocción el mercurio y el sulfuro mercúrico pueden recobrase como subproductos en la subsecuente destilación del alquitrán del carbón.

Los datos son aún más escasos con relación al contenido de mercurio en el petroleo crudo que para el carbón, un analisis espectrografico cuantitativo del contenido del metal fué hecho de -- las cenizas de tres petroleos crudos ; el analisis mostró que estos petroleos crudos contenian notablemente grandes cantidades de mercurio las cantidades variaban de 1.9 a 21 ppm. La última cantidad es una de las más altas reportadas en cualquiera de los fluidos naturales. Se ha calculado que la cantidad total de mercurio-desechado de todos los fluidos durante la existencia del campo petrolero Cymric probablemente equivalga a muchos miles de frascos de 76 libras cada uno.

Aunque el contenido de mercurio de los combustibles fósiles pueden aparecer como insignificantes, si las cantidades totales de carbón y petróleo que se consumieron en el mundo desde la revolución industrial son tomadas en cuenta, la cantidad de mercurio liberada en el medio ambiente podría muy bien exceder las cantidades de mercurio perdidas a través de la explotación de la tecnología relacionada con el mercurio. Con el objeto de apreciar la importancia de ésta fuente con relación a otras fuentes de contaminación del medio ambiente por el mercurio es interesante notar que en 1968 solamente en los Estados Unidos, la producción de carbón y petróleo crudo excedió los 488 y 500 millones de toneladas respectivamente.

Otra fuente de contaminación bastante grande del medio ambiente por mercurio en la recuperación o uso de materias primas que contienen pequeñas cantidades de mercurio. Rastros de mercurio están presentes en muchos minerales de azufre en concentraciones que económicamente no son factibles de recuperar. Cuando estos minerales son quemados el mercurio se vaporiza y es sacado con el dióxido de azufre que se desarrolla.

En casos especiales importantes cantidades de mercurio son recobradas como un subproducto en la producción del cobre, zinc, plomo y oro; Se ha calculado que las minas de metales tienen un contenido promedio de mercurio de 3ppm. Ésta estimación se basa en el "Halo de Mercurio" método para explotación de minas de sulfuro-

La liberación anual a nivel mundial de mercurio de la fundición de minas varía entre 6 y 40 millones de libras. Se ha estimado -- que la fundición de cobre, plomo y zinc potencialmente puede liberar tanto mercurio en la atmósfera como el que fué consumido industrialmente en los Estados Unidos en 1968 y la fundición podría ser una fuente diez veces más grande.

Inicialmente la atención mundial se fijó en el problema de la contaminación del medio ambiente por mercurio, cuando varias personas fueron envenenadas por comer pescado y mariscos contaminados por mercurio a mediados y finales de los años cincuentas. En una planta química ubicada cerca de Minamata, Japón fueron usados sulfatos de mercurio y cloruros de mercurio como agentes catalizadores para convertir acetileno en acetaldehído y cloruro vínilico. Como resultado de éstas operaciones, los catalizadores de mercurio fueron metilados en una reacción lateral para formar el muy venenoso cloruro de metil mercurio que era desechada como parte del desague de desecho en la bahía de Minamata. Subsecuentemente el cloruro de metil mercurio que se acumuló en los peces y mariscos fué la fuente tóxica de graves enfermedades neurológicas de los habitantes dentro de la vecindad de la Bahía de Minamata, actualmente el nombre de enfermedad de Minamata describe las características químicas y patológicas de esta enfermedad neurológica y es sinónimo del envenamiento con metil mercurio específicamente y envenenamiento con alquil mercurio en general. Desde 1953 en --

que apareció la enfermedad de Minamata por primera vez a la actualidad se han confirmado 121 casos de la enfermedad resultando en 46 muertes en el área de Minamata, además de 47 casos confirmados y 6 muertes en Nugata, Japón (3-4) (5).

PRESENCIA Y DISTRIBUCION DEL MERCURIO

Las concentraciones de mercurio presentes en la naturaleza cuando no ha habido contaminación por el hombre son difíciles de determinar. Grandes variaciones en las concentraciones de mercurio presentes se encuentran por un gran número de razones. Por ejemplo, puesto que el mercurio es móvil en ambientes de temperatura alta las rocas igneas contienen menos mercurio que las formaciones sedimentarias como los esquistos pero las cantidades son muy variables, puesto que la naturaleza del mercurio es volátil - la diseminación en forma de aureolas se forman alrededor de los depósitos de Cinabrio. Estas aureolas son bastante extensas y sirven de índice en la investigación del mercurio en cualquiera de los sulfuros metálicos asociados con los depósitos de mercurio, - Se ha reportado que en capas internas de los suelos con sistemas extensos de venas ricas en minerales en Real del Monte Pachuca, - México, contienen de 250 a 1900 ppm. superiores al valor de la presencia media normal de 50 ppb.

Reportes de concentraciones de mercurio en suelos que parecen demasiado altos como los de 920 ppb. son especialmente signi-

ficativas en áreas en que no hay mineralizaciones mercuriales. En tanto que el contenido de mercurio en una muestra determinada varía en localizaciones geográficas diferentes de variación de cantidad de materiales húmedas y arcillas en fracciones del suelo modifica su capacidad para acumular mercurio, Se ha encontrado que el limo o fracción orgánica del suelo tiene la más grande afinidad para el mercurio y que existe una relación directa entre estos dos parámetros. También se encontró que el contenido de mercurio en el componente orgánico del suelo de Morena es de 1100 ppb mientras que su componente mineral solamente contiene 80 ppb (6) además de estos estudios se desprende que la adsorción y desprendimiento de mercurio contenido en el limo de un suelo depende de su p^H Se absorbe en bajos niveles de p^H y aumenta en la cantidad absorbida por los minerales del suelo cuando el p^H aumenta. Por lo tanto este mecanismo tiene un papel significativo en el cambio de ubicación de mercurio en el medio ambiente.

De reportes de 1930 con respecto al promedio de mercurio total en el aire Stocks y Cucuel (7) dan un promedio de mercurio total en el aire de 1.02 mg/m^3 y analizando el aire de 20 casas en áreas adyacentes Goldwater (8) encontró que las concentraciones van de 1 a 41 mg/m^3 para muestras tomadas en el interior de las casas y de 0.0 a 14 mg/m^3 para muestras exteriores. Fujimura en un estudio de la concentración de mercurio en el aire en Japón encontró que ésta varía de 0 a 14 mg/m^3 en varias localizaciones no

industriales. Se encontró que la cantidad aumento a $18,000 \text{ mg/m}^3$ en el aire de una supercarretera con mucho tráfico; además se encontró que la concentración de mercurio en polvos de las calles - variaba antes 0.018 y 0.022 ppm.

En Japón se encuentra una alta concentración de mercurio - debido a que se usaron grandes cantidades de fungicidas organo - mercuriales en el tratamiento de cosechas de arroz. En esas áreas de concentración atmosférica del mercurio se ha reportado hasta - la $10,000 \text{ mg/m}^3$. En Rusia donde Sergeyev (9) encuentra que la con centración en el aire fué menor de 10 mg/m^3 . En Estados Unidos, - Cholak (10) encuentra un promedio de 0.10 a 0.17 mg/m^3 en Cincina ti, Ohio en partículas materiales suspendidas en el aire en Char - leston, Carolina del Sur también se encontró con un promedio total de 0.03 a 0.21 mg/m^3 . En un análisis sobre Denver, Mc. Carthy (11) - encuentra concentraciones de 2 a 5 mg/m^3 de mercurio arrastrado - por el aire. En un estudio reciente se descubrió en la atmósfera - a $10,000$ pies a 20 millas de Sn. Francisco que la concentración - de mercurio era de menos de 1 mg/m^3 en tanto que la concentración en el área de la Bahía de Sn. Francisco variaba según la estación del año. En verano iba de 2 a 50 mg/m^3 en invierno de 1 a 25 mg/m^3 - Willistone también advirtió una cierta correlación entre el conte nido creciente de mercurio en la atmósfera y el smog acusado por - la inversión de temperatura; él cree que los altos valores en el - verano podrían deberse a la elevación progresiva de la temperatu -

ra en el suelo que permite que parte de su mercurio escape al aire y se disipe por el viento y se precipite por la lluvia.

Parece razonable pensar que la concentración de mercurio - en el aire y por lo tanto en el agua de lluvia debe ser aprecia - blemente más alta en áreas industrializadas; en primer lugar por el aumento en el consumo de combustibles fósiles, la evaporación y las pérdidas mecánicas del mercurio utilizado en las industrias. Los análisis de muestras de suelo tomadas en el complejo indus - trial del río St. Clair y en Detroit sugieren que esto es verdad y estos datos indican que las concentraciones en suelos distantes o en vientos contrarios a las áreas industrializadas promedian -- 0.03 ppm. en tanto que en las regiones adyacentes a las regiones - altamente industrializadas pueden ser hasta 10 veces más altas. - Con fines comparativos la Conferencia Americana de Higienistas In - dustriales estableció en 1967 que el límite de valores (T.L.V) por exposición durante 8 horas en un aire que tenga 100 mg/m^3 de com - puestos inorgánicos de mercurio y 10 mg/m^3 para materiales de mer - curio orgánico.

Ya que el vapor de mercurio está presente en la atmósfera - este debe estar presente también en la lluvia. En un estudio de - (7) de 17 muestras se detectó mercurio en 12 de ellas en concen - traciones que variaban de 0.05 a 0.48 mg/l. Eriksson ha reportado que las concentraciones de mercurio (12) en la lluvia varían de 0 a 0.20 ppb. Usando técnicas de análisis de Activación neutronica-

a baja temperatura, Brune (13) encontró que el contenido de mercurio en la lluvia (en Suecia) era de 0. 0.33 ppb. Así mientras estas cantidades confirman la presencia del vapor de mercurio en la lluvia y aire, la extensa variabilidad de las cantidades debe reflejar la creciente carga de contaminación, resultante de las grandes cantidades de mercurio que escapan de áreas altamente industrializadas a la atmósfera.

La existencia del mercurio en el medio ambiente marítimo, fue primeramente presentado por Proust (4), éste usó ácido sulfúrico para convertir la sal del mar en ácido clorhídrico. En ese tiempo el ácido sulfúrico se producía generalmente del trióxido sulfúrico el cual era obtenido al quemar sulfuros de minerales. Estos minerales frecuentemente contenían impurezas de mercurio, se llegó a la conclusión de que el mercurio se originaba en el agua de mar, y podía también ser introducido por ácido sulfúrico. Más tarde Garrigou, Willm y Bardet (16,16,17) confirmaron la existencia de mercurio en algunas aguas minerales en Francia.

Los lagos, ríos y corrientes en el mundo son el primer método de transportación de mercurio en el medio ambiente por lo tanto se establecerá los niveles normales de mercurio en la superficie terrestre, y aguas oceánicas. En 1930 Stocks y Cucuel (7) - en Alemania y Stocks (18) encontraron una variación de 0.02 a 0.07 ppb. en Suecia Willsander (19) estableció una cantidad muy pequeña de 0.05 ppb. de mercurio en análisis de aguas de ríos y aguas-

de drenaje de tierras cultivadas. En un estudio de 300 muestras de aguas naturales en Italia Central Dall'Aglio (20) encontró una variación de 0.01 a 0.05 ppb. de mercurio. Wershaw (21) investigó 73 aguas de superficies de diferentes partes de los Estados Unidos y encontró que variaban de menos del límite detectable de 0.1 ppb a más de 5 ppb de mercurio. Recientemente Chaw y Saitoh (22) reportaron que una muestra de agua tomada del lago Ontario cerca de la Bahía de Hamilton contenían un promedio de concentración de mercurio de 0.048 ppb. basados en la poca documentación los "Niveles normales de mercurio" en las aguas de la superficie y del suelo podrían muy bien variar de 0.02 a 0.7 ppb. dependiendo de la disponibilidad de mineralizaciones de mercurio o polución en el área respectiva.

Los niveles normales de mercurio varían extensamente en aguas frescas y sin polución de lagos, corrientes y ríos debido a lo complejo de los iones que están presentes en esas aguas, Muchos parámetros afectan el movimiento del mercurio y otros iones metálicos a través del medio ambiente. Estos parámetros incluyen el p^H temperatura, potencial redox, alcalinidad y varios agentes quelantes presentes naturalmente. Las variaciones entre estos y otros parámetros desconocidos o mal entendidos puede aumentar el mercurio que ésta disponible en un sistema muchas veces más allá de lo que podría considerarse como el "nivel normal" (23-27).

Las cantidades reportadas de mercurio contenido en aguas oceánicas varían también grandemente. En aguas oceánicas las cantidades reportadas llegan a ser entre 0.03 y cerca de 3 ppb. (177, 13, 28, 33) Hosohara reporta (35) que el contenido de mercurio de las aguas de la Bahía de Minamata, Japón variaban entre 1.6 y 3.6 ppb. Probablemente reflejando la resia polución de esa área. Se encontró que el placton contenía de 3.5 pp. a 19 ppm de mercurio lo que sugiere que grandes cantidades de mercurio son consumidas por el Placton. Las grandes cantidades de mercurio en el agua son probablemente debidas en gran parte al creciente contenido de --- constituyentes orgánicos. Los datos indican que grandes cantida-- des de mercurio han sido depositados en la Bahía como resultado - de procesos de manufactura que utilizan mercurio como catalizador (3). Se ha calculado que un excedente de 600 toneladas de mercurio han sido depositados en la Bahía debido a estos procesos. --- (30). Se encontró que la distribución vertical de mercurio en el área profunda de Ramapo en el Océano Pacífico aumentaba con la -- profundidad las cantidades de 0.15 a 0.27 ppb de mercurio en la - superficie y a 3000 m. de profundidad respectivamente. Leatherlan (35) reportó la concentración de mercurio de 4 muestras de la superficie de aguas oceánicas del Noroeste Atlántico eran de 0.013 y 0.018 mg/l. Las muestras de agua de debajo de la superficie variaban entre 0.003 mg/l y 0.020 mg/l. Estas cantidades concuerdan - bien con los datos de Stock y Cucuel (7) pero son menores de las de

0.06 a 0.27 mg/l que Hosohara reportó (32) de aguas profundas del noroeste del Océano Pacífico. Estas variaciones pueden ser simplemente una función de la ubicación geográfica y refleja la naturaleza hidrotérmica y volcánica de la cuenca del Noroeste del Pacífico.

Harriss (36) determinó el contenido de mercurio de los nódulos de manganeso de mar profundo tomado de varios lugares en los Océanos Pacífico, Indico y Atlántico, los resultados fueron grandemente variables alcanzando menos de una parte por billón a 810 ppb. Las concentraciones de mercurio que pueden considerarse debidas a mercurio natural en el medio ambiente varían de 0.03 a 5.0 ppb - con una cantidad media normal variable alrededor de 0.03 ppb. Estos datos demuestran que las variaciones pueden ser mucho mayores dependiendo de la profundidad y localización geográfica donde las muestras son tomadas.

MERCURIO EN SEDIMENTOS

El mercurio se acumula en sedimentos, ya sea de fuentes naturales tales como cambios geológicos y de fuentes directas o indirectas de las actividades del hombre. En aguas contaminadas con alta concentración de mercurio tales como las de la Bahía de Minamata, los niveles encontrados fueron de 2010 ppm sobre una base de peso seco. Normalmente los sedimentos de ríos, lagos y Océanos -- contiene menos de 70 a 10 ppb. porque no reciben cantidades subs-

tanciales de mercurio de cambios geológicos o polución directa hecha por el hombre. Se estima que las rocas sedimentarias tienen niveles de mercurio de ppb. En un estudio del mercurio en sedimentos pelágicos a lo largo de una travesía por el este del Océano Pacífico Bostrom, y Fisher (38) encontraron concentraciones de mercurio entre 1.0 y 400 ppb. D'ltri (40) estudiaron los niveles de mercurio en un lago oligotrófico y en un lago eutrófico en una área y subdesarrollada del norte de Michigan, Mientras que el contenido de mercurio de tierras que rodean los dos lagos era aproximadamente la misma, los sedimentos del lago eutrófico (0.30 a 1.25 ppm. peso seco) contenían substancialmente más mercurio que los sedimentos del lago oligotrófico (0.03 a 0.12 ppm. peso seco).

En áreas que reciben contaminación por mercurio en alguna forma, hecha por el hombre los niveles pueden ser más altos, Una investigación de los niveles de mercurio en el río St. Clair y el Lago Erie indican niveles de mercurio de peso seco alcanzando un nivel de 500 a 9200 ppb. Los niveles más altos resultan de desechos conocidos el promedio total de contenido de mercurio del Lago Erie en los alrededores del Río Raisin alcanzaron de 190 a 530 ppb. sobre una base de peso seco (42). Kennedy (43) establecieron que el contenido de mercurio en capas más altas de 132 muestras de sedimentos tomados del sur del lago Michigan promediaron entre 100 y 400 ppb. Sin embargo los niveles base de mercurio sobre una base de peso seco encontrados a una profundidad de 10 a 15 cm. --

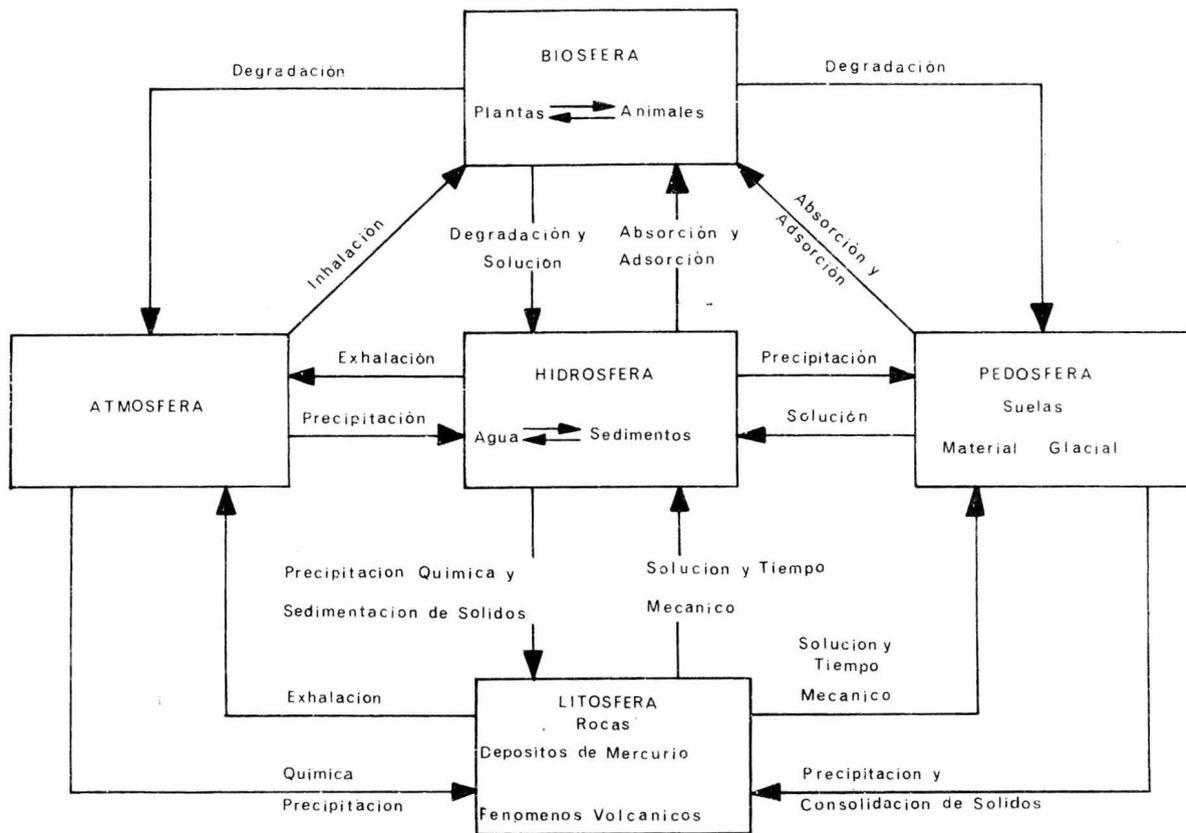
era solamente de 30 a 60 ppb. con tasas conocidas de acumulación de sedimentos. Se encontró que los niveles de mercurio en los sedimentos empezaban a aumentar sobre niveles anteriores de 358 ppb a la vuelta del siglo. Entre 1900 y 1940 los niveles de mercurio aumentaron gradualmente; así entre 1940 y 1952 los niveles se - - cuadruplicaron. Desde 1950 los niveles de mercurio en los sedimentos han fluctuado aunque han mostrado un aumento lento pero firme hasta la actualidad. Al estudiar el contenido de mercurio (peso - seco) de varios sedimentos del fondo en Wisconsin, Konrad (44) - encontró que los antecedentes de niveles de mercurio alcanzaban - de 10 a 350 ppb. Grandes depósitos de mercurio fueron encontrados debajo de los desagües de fábricas que usaban mercurio en sus operaciones de manufactura (7500 - 50000 ppb). Se encontraron también cantidades apreciables de mercurio bajo varias plantas de tratamiento de drenaje por ejemplo de 50 a 6800 ppb.

El mercurio disuelto es comunmente removido del medio acuoso a través de la absorción de partículas de materia orgánica e - inorgánica suspendidas que se precipitan como sedimento. Los cationes de mercurio y monometilmercurio pueden absorberse en materiales seleccionadas como matrices orgánicas de cuarzo o silicatos, los agentes orgánicos complejos solubles en el agua tales como los derivados de los humos y de las lechadas, pueden complicar las especies mercuriales solubles para formar tantos complejos mercuriales solubles en el agua como insolubles.

Esos complejos mercuriales insolubles se precipitan directamente de su solución en los sedimentos del lago o del agua que lo contenga; en tanto que los complejos mercuriales solubles son removidos por absorción o cualquier partícula de materia orgánica e inorgánica que se encuentra en el agua. Sin embargo como los sedimentos van haciéndose más y más anaeróbicos, los compuestos mercuriales-- precipitados lo más probable es que se conviertan en sulfuro mercurico. Esto reduce la posibilidad de que vuelvan a ser reintegrados a los ciclos del ambiente acuático. Este mecanismo falta en los -- sistemas acuáticos que son aerobios durante todo el año y por lo -- tanto el mecanismo para la descontaminación natural de lagos o de corrientes que están en relación con la capacidad de absorción de las partículas de materia y de la materia disuelta, se ha visto -- que el contenido de mercurio aumenta exponencialmente con el área de la superficie específica media de las partículas de materia en suspensión que tengan un tamaño menor de 60 micras.

METILACION BIOLÓGICA

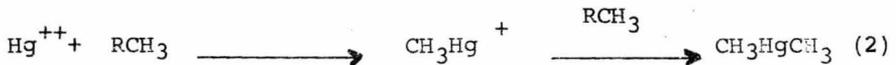
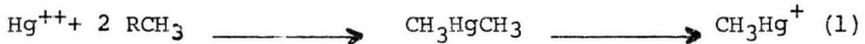
Desde el punto de vista ecológico el aspecto más serio del problema ambiental del mercurio es que microbios especialmente -- adaptados en un ambiente acuático son capaces biológicamente de hacer la síntesis del metilmercurio a partir del ión mercurico (44 - 46, 48). Estudios indican que la población de especies microbianas que originan la polución orgánica, la concentración mercuriana, la



CICLO GEOQUIMICO DE MERCURIO GENERALIZADO

temperatura y el pH del sistema y otros parámetros desconocidos - afectan el proceso biológico de la metilación.

A fines de 1960 se aceptó generalmente que los compuestos-mercuriales y que especialmente el elemento mercurio liberado en el ambiente puede ser asimilado por el ambiente y como resultado-eliminarse hasta el punto de que ya no sea más un problema. En -- 1967 este modo de pensar fué demostrado que era incorrecto por Jen sen y Jernelov (47, 48) establecieron que el mercurio inorgánico puede ser metilado en el fondo del sedimento contenido en aguas, - para formar tanto mono como dimetil mercurio. Como una explicación posible sugieren que ciertos elementos vivientes tienen capacidad de metilar cualquier compuesto mercúrico que se encuentre dando - mono y dimetil mercurio ; se propusieron las reacciones siguien-- tes ;



Estos experimentos han proporcionado la primera evidencia- de la conversión de los compuestos mercuricos está relacionada -- con los microbios anaeróbios. Es interesante hacer notar que este mecanismo fué propuesto originalmente como una hipótesis por Fugi ki en 1960 para explicar la presencia de dimetil mercurio en ma - riscos de la Bahía de Minamata en Japón. Fugiki sugiere que el (51) mercurio puede ser alquilado por el placton y otras formas de vida

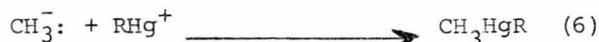
marina. Esta hipótesis se decidió por el descubrimiento posterior de que una planta química usó como catalizador mercurio y fué el responsable del metil mercurio en la Bahía. Aproximadamente un -- año después en los Estados Unidos Wood (41) usando extractos de - células libres de bacterias metanogénicas demostraron que los com puestos del tipo del alquil -B₁₂ que contengan alquil cabalmente pueden servir como agentes alquilantes y convertir el mercurio -- inorgánico en monometil y dimetil mercurio. Además encontraron que en condiciones débilmente reductoras los compuestos alquil B₁₂ -- pueden servir de intermediarios en la metilación no enzimática -- del ión mercúrico. Además se expuso que si ésta reacción no enzimática metilica es significativa en los sistemas biológicos, puede mejorarse por condiciones anacroticas incrementando el número de bacterias capaces de sintetizar alquil cabalamina. Por lo tanto los estudios de Wood y otros reafirman una combinación de los dos mecanismos propuestos por Jensen y Jernelov (47, 48) y al mismo tiempo describen un mecanismo para la conversión no enzimática del ión mercúrico en dimetil y monometil mercurio. Recientemente series más completas de posibles mecanismos de reacción para la síntesis enzimática biológica del dimetil y monometil mercurio ha sido propuesta por Wood (50).

Estos mecanismos se basan en la reacción del ión mercúrico con B₁₂ que contenga sistemas enzimáticos. El mecanismo de la Acetato sintetiza con organismos anaeróbicos *Clostridium thermoace--*

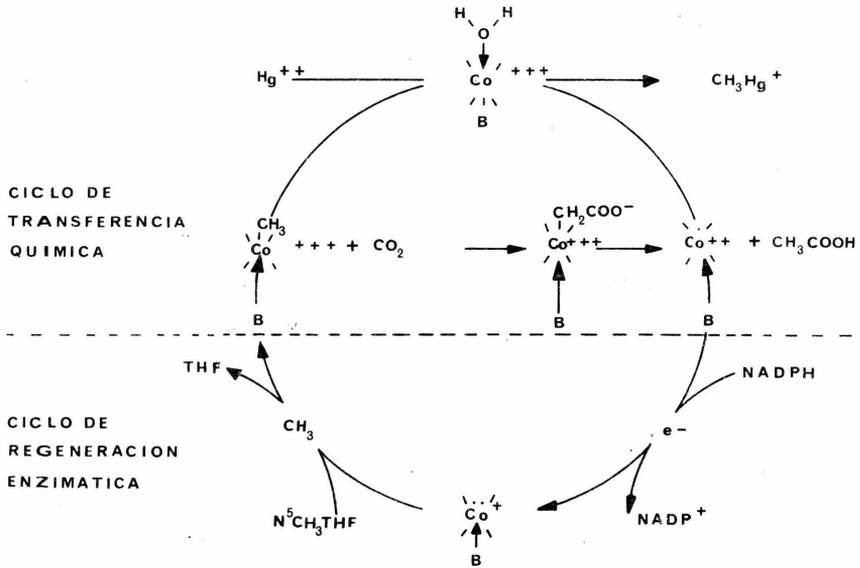
ticium y Clostridium sticklandii, se da como sigue:

- 1.- NADPH+ es fosfato oxidado de nicotinamida adenina dinucleotido.
- 2.- NADPH es fosfato reducido de nicotinamida adenina dinucleotido.
- 3.- THF ES TETRAHIDRO FOLATO.
- 4.- N^5CH_3 es N^5 metil tetra hidro folato.
- 5.- B es la base de 5,6- dimetil bencimidazol, pero pueden coordinarse algunas ligaduras basicas al átomo de cobalto.

Bertilsson y Neujahr (52) describen el siguiente mecanismo para la metilación de mercurio en donde RHg^+ es un catión organo - mercúrico por lo tanto para que Hg^{++} y RHg^+ sean metilados se requiere un metil carbanión. Actualmente el único compuesto natural-capaz de efectuar la transformación en la vitamina B_{12} derivada de la metil cobalamina.

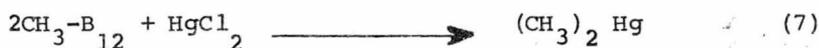


La reactividad del cloruro mercúrico con respecto a la metil cobalamina es mayor que la de muchos otros compuestos mercúricos orgánicos. Los datos obtenidos no afirman el postulado de la formación de dimetil mercurio como principal producto de metilación porque la relación de reacción entre metil cobalamina y monometil-



Mecanismo de la Síntesis biológica anaerobia para metil-mercurio

mercurio es mucho mas lenta que la de la reacción de la metil co
 balamina con cloruro mercúrico. Imura (53) han reportado sobre -
 la transformación química de la metil cobalamina a mercurio inór
 ganico bajo condiciones diversas, encontraron que la reacción --
 de transmetilación se lleva a cabo de una manera inesperadamente
 alta cuando la metilcobalamina se mezcla con mercurio inorgáni
 co en soluciones acuosas neutras en ausencia de condiciones re--
 ductoras. Tambien el producto inicial de la reacción es dimetil-
 mercurio especialmente cuando se ha usado cantidades equimolares
 o menores de cloruro mercurico. El cloruro de mercurio adiciona--
 do convierte al dimetil mercurio sintetizado a cloruro de mono--
 metilemercurio los mecanismos para ésta transmetilación son:



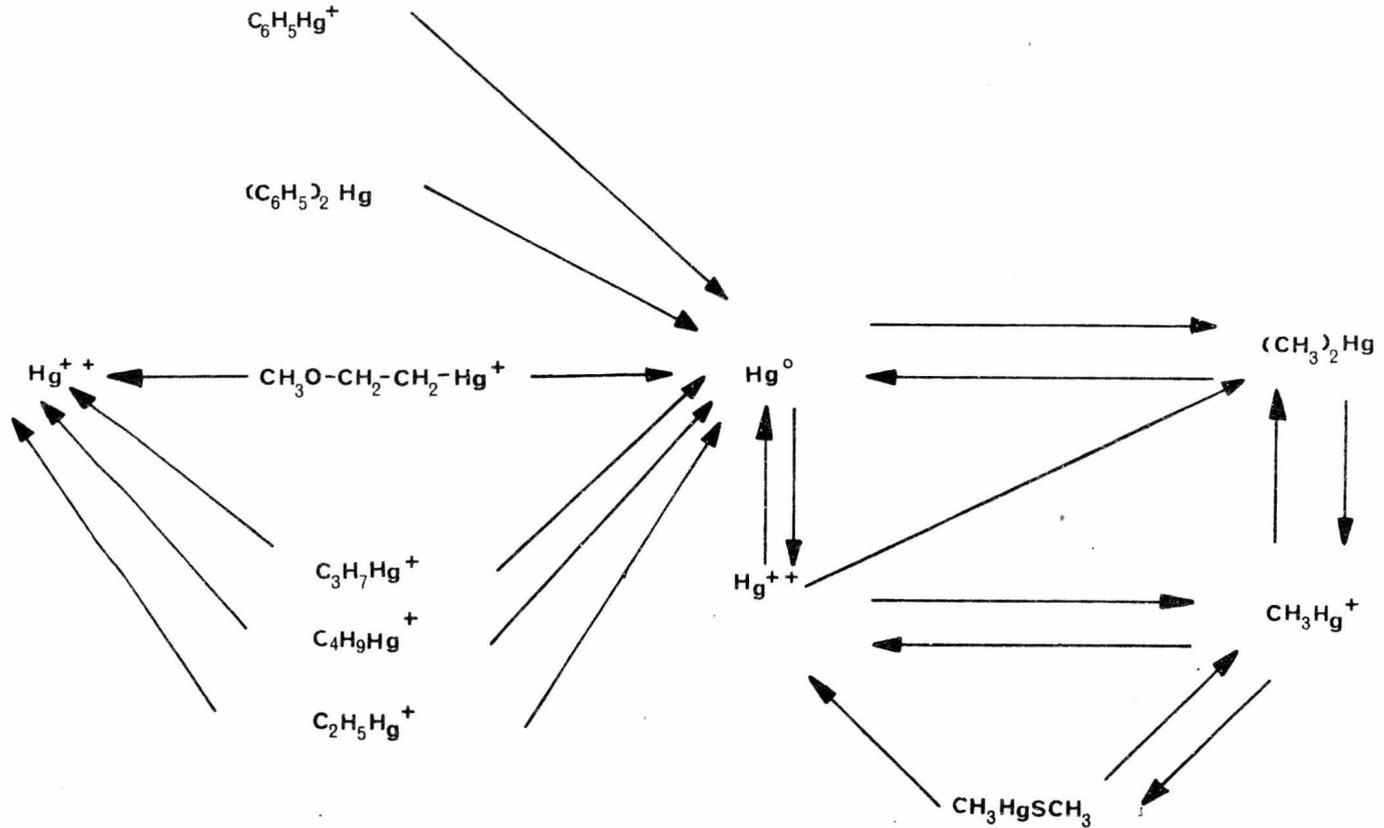
Las reacciones de transformación de los diferentes compues
 tos de mercurio en la naturaleza son significativos y en tantos -
 que cientos de compuestos orgánicos e inorganicos se han sinteti-
 zado en los últimos cien años las clases de compuestos de mercu--
 rio mas importantes que se encuentran en el medio ambiente son:

Primero mercurio metálico Hg^0

Segundo mercurio inorgánico divalente Hg^{++}

Tercero Fenil Mercurio $\text{C}_6\text{H}_5\text{Hg}^+$

Cuarto alcoxilquilmmercurio, $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Hg}^+$ o Alquil mercurio en-
 general.



MODELO DE LA CONVERSION DE MERCURIO EN EL AMBIENTE ACUATICO

Werner (56) derivó una ecuación para expresar el potencial Rédox del mercurio $\text{Hg}^0 \rightleftharpoons \text{Hg}^{++} + 2 e$ se acopla como una función de la afinidad de absorción del ión mercurico para el lodo organico (56) y la concentración del ión mercurico libre del sistema.

$$E = 850 + 30 \text{ Log } \frac{\text{Hg}^{++} \text{ Total}}{\alpha}$$

En donde E es el potencial en milivoltios que se requieren para oxidar mercurio metálico a ión mercurico, alfa es una medida de la afinidad del ión mercúrico por el lodo orgánico 30 es la constante de Nernst con respecto a dos electrones, 850 es el potencial estandard de reducción (cuando se usa el electrodo estandard de hidrógeno) para $\text{Hg}^0 \rightleftharpoons \text{Hg}^{++} + 2 e$ en milivoltios.

El potencial redox que se genera en las aguas naturales está en función de la concentración del oxígeno disuelto y del pH.

Los estudios de Jensen y Jernelov (47,48) indican que las cantidades relativas de compuestos de mono y dimetil mercurio producidos en un sistema determinado son función de las especies microbianas de la carga de polución orgánica de la concentración mercúrica de la temperatura y del pH de ese sistema. Los datos parecen indicar que a una concentración baja de mercurio el ultimo producto es dimetil mercurio del paso de la reacción de metilacion en tanto que si concentraciones altas de mercurio se encuentran se producen monometil mercurio. Además parece que el ambiente neutro y alcalino favorece la formación de dimetil mercurio que facil

mente se descompone a metil mercurio en ambientes ligeramente aci
dificados. Por lo tanto el pH y el nivel de mercurio estan corre-
lacionados en el ambiente del agua contaminada con mercurio. En -
resumen si se asume que el flujo de mercurio en el agua se detie-
ne, el proceso de metilación biologica puede favorecer la produc-
ción de dimetil mercurio en aguas neutras o alcalinas que pueden
tender a escapar a la atmosfera debido a la alta presión de vapor
o volatilidad.

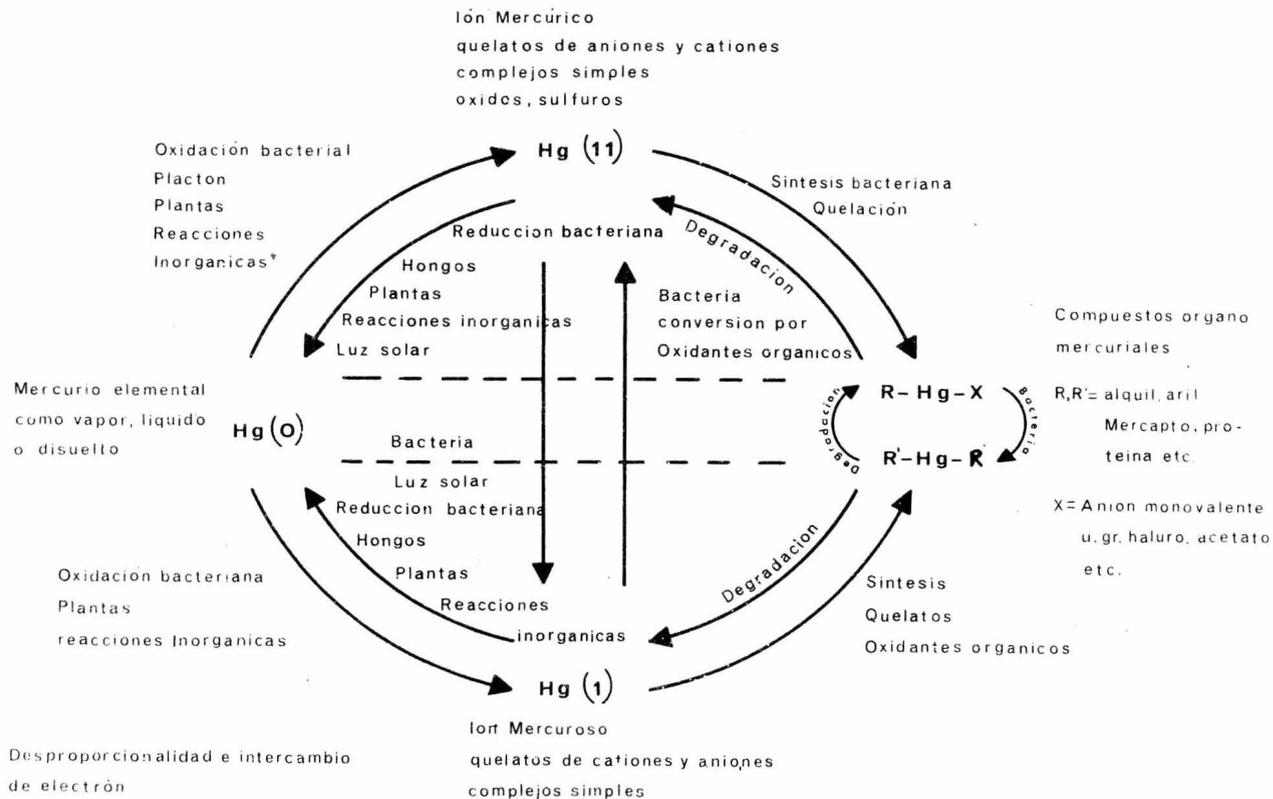
CONVERSIONES ADICIONALES DE COMPUESTOS DE MERCURIO EN EL ECO-SISTEMA ACUATICO DE ORIGEN MICROBIANO.

Parece que algunos microbios son capaces de metilar al mercurio para formar mono y dimetil mercurio en tanto que otros son capaces de reducir el mercurio divalente inorganico a mercurio elemental que puede evaporarse subsecuentemente en la atmosfera.

Hacia 1960 Magos (60) reportaron que la *Pseudomona aeruginosa* y las especies de *Proteus* y otros dos microorganismos mas no identificados en un aprovisionamiento de agua convirtieron el ión mercurico en mercurio elemental.

Este mercurio se volatilizó de ciertos medios biológicos -- como homogenados de tejido, plasma y orina y despues de un período latente de unas 10 horas la pérdida de mercurio se reportó como del 75%. Furukawa (61) establecieron que *Pseudomonas* K-62 que se aislaron del suelo, descompusieron varios tipos de compuestos mercuricos orgánicos produciendo mercurios metálicos.

Yamada (62) investigando los cambios que se efectuan en los compuestos mercuriales que se efectuan en un sistema de lodos activados reportan que cuando se añaden varios compuestos mercuriales al lodo absorbente de mercurio una fracción de éste se evapora del cultivo. En estudios similares Susuki (63-64) demostraron que una cepa de la bacteria *Pseudomona* K-62 resistente al mercurio que es capaz de tomarlo y convertirlo, fue usada para quitar compuestos de mercurio presentes en los desechos de agua indus---



CICLO DEL MERCURIO E INTERCONVERSIONES EN LA NATURALEZA

trial. Matsumura (65) establecieron que el acetato de fenil mercurio puede ser rápidamente metabolizado por un suelo seleccionado y microorganismos acuáticos y el dimetilmercurio es uno de los más abundantes productos del metabolismo. Aunque el fenilmercurio no es comúnmente convertido a metilmercurio directamente por microbios en condiciones aeróbicas. Tonoura (66) reportó que cuando menos una especie de microorganismos es capaz de convertir el fenilmercurio en mercurio metálico; y este puede fácilmente ser oxidado dando los iones mercurícos que se necesitan para la formación del fenilmercurio.

Tal parece que cepas seleccionadas de bacterias, no solo son capaces de degradar varios compuestos mercurícos, sino que poseen también más alto grado de tolerancia al mercurio que otros. Por ejemplo se ha observado inhibición al crecimiento de *Escherichia coli* y *Pseudomonasaeruginosa* a concentraciones de 20, 120, y 450 ppm de fosfato de etilmercurio en tanto que cepas seleccionadas de *Pseudomonas* o de bacterias parecidas son detenidas en su desarrollo en concentraciones de mercurio mil veces mayores (67 - 69). Parece que la resistencia a la actividad bacteriostática de los compuestos mercuriales depende de que la bacteria que en cuestión absorba o no los compuestos. En una serie de trabajos Tonoura establecieron que las bacterias mercurioresistente tienen habilidad para fijar y ligar con vínculos débiles a la pared celular el compuesto mercurial y después estimular la acción biológica de la vaporización del mercurio. Se ha propuesto dos teorías para --

explicar la vaporización del mercurio. Primera: es estimulada por alguna substancia gaseosa desprendida de la superficie bacteriana en que se ha fijado el mercurio. Segunda: El compuesto mercurico es químicamente transformado de una substancia mas volátil como el mercurio metálico. A la inversa la actividad altamente bacteriostática de compuestos mercuriales para *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa*, puede resultar de otro tipo de ligazón, ya química, ya biológica. En un estudio encaminado a determinar el sitio de absorción del ión mercurico en la *Escherichia coli*, Harris (73) observaron que el ión no se deposita en la superficie de la célula sino que mas bien se combina con la porción citoplasmática de la bacteria.

Con base a los escasos estudios es probable que los microbios seleccionados jueguen un papel importante, aun desconocido, en la reducción de la toxicidad de los compuestos mercuricos en el medio ambiente; este mecanismo puede ser la causa de perdida de mercurio almacenado en soluciones acuosas, reportada por Corner y Rigler. (74).

EXALTACION BIOLOGICA.

No solo son los mas altamente toxicos que las otras formas sino que son tambien mas moviles biológicamente. Los organismos acuaticos son capaces de concentrar el metil mercurio ya directamente del agua o por la cadena alimenticia. De esta manera quedan envueltos los procesos biologicos la conversión de compuestos mer

curicos inórganicos de baja toxicidad en metil mercurio altamente tóxico y en la exaltación biológica, de este material en el organismo acuático.

En tanto que concentraciones mercuricas entre 10-20 ppb -- pueden ser toxicos para los organismos acuaticos, niveles no mortales son tambien absorbidos y exaltados biologicamente. La acumulación resulta de la absorción por ingestión o directamente del agua a través de las superficies externas de los organismos (piel o epitelis) y o a través de las membranas de las agallas durante la respiración. Puesto que los compuestos mercúricos son cuando menos mil veces mas solubles en lípidos que en agua son fácilmente -- extraídos del agua o del alimento por contacto con las porciones de -- lípidos en los tejidos. De 85 a 95% del mercurio total en los peces contaminados esta en forma de metil mercurio y se debe por su afinidad por los grupos sulfhidrilo y lípidos. Además la magnitud de la contaminación de mercurio en los organismos acuaticos es no -- solamente en función de las especies y de los intervalos de su -- exposición siendo tambien de sus hábitos alimenticios (nivel -- trófico), la rapidez del metabolismo, de la edad y tamaño del organismo y de varios parámetros, de la calidad del agua tanto del grado de polución mercurica.

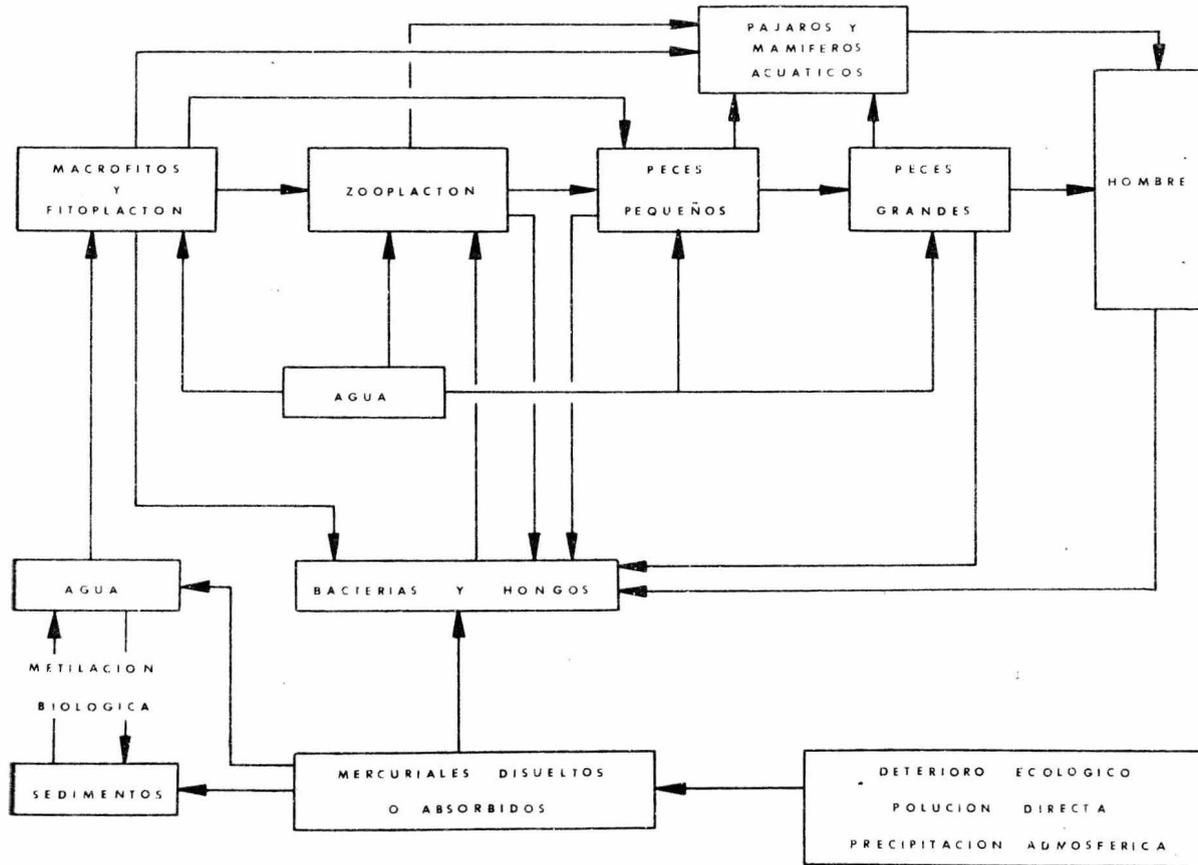
Aunque se tienen pocos datos de esta exaltación biológica del mercurio en el ambiente acuático, este proceso parece estar -- en relación con el organismo en particular a cada nivel trófico. -- Se ha demostrado que el *Esox lucius* L. esta en lo mas alto de la cadena alimenticia; tienen niveles de mercurio en el tejido mus --

cular 3, 000 veces mas grande que el nivel en el agua en que se --
 pescan (75). Hannerz (76) reporta que a factores iguales la acumu-
 lación de mercurio por los organismos acuaticos fue aún mas fun---
 ción de sus hábitos alimenticios y su velocidad de metabolismo que
 de su nivel trófico en la cadena alimenticia. La cantidad de inor-
 ganico y organico disuelto en cualquier materia particular en un --
 ambiente acuatico puede ser significativo en la acumulación del --
 mercurio por el pez.

D' Itri (40) establecieron que la trucha asalmonada (*Salmo-
 gairdneri*) pescada en un lago oligotrófico contenía mercurio a ni-
 veles triples que la trucha pescada en un lago eutrófico cercano.

Jernelov (82) dejó establecido que el metil mercurio es li-
 berado de los sedimentos en relación no solo con la profundidad a-
 la que se encuentra enterrado sino mas por la actividad de la ma--
 crofauna que vive en los sedimentos. Sin macroorganismos la forma-
 ción y liberación de metil mercurio se lleva a cabo casi por com--
 pleto en el centímetro superior del sedimento. Chapman a conocer
 que fitoplacton, macrafitos y peces de aguas recientes pueden acre-
 centar mil veces las concentraciones de mercurio mientras que los
 invertebrados tienen un factor de magnificencia de 100,000 veces.
 Hannerz reporta un factor de magnificencia biológica de los inver-
 tebrados entre 500-2000, 3300-8500, 900-4,200, 250-560, para el hi--
 droxido de metoxietil mercurio, hidroxido de metil mercurio, aceta-
 to de fenil mercurio y cloruro de metil mercurio y cloruro mercúri-
 co respectivamente.

Johnels (75) reportan un factor de magnificencia biologica-



ESQUEMA GENERALIZADO DE LA TRANSFERENCIA DE MERCURIO EN EL FLUSISTEMA ACUATICO A EL HOMBRE

de 3,00 para el soyo del norte en tanto que Underdal y Hastein -- (84) han establecido factores biológicos de magnificación de 7 a 10,000 para algunas especies de salmónidos y pérsidos en el agua que sale de una fábrica de pulpa de madera. La variación tan amplia en magnificación biológica no es de extrañarse teniendo en consideración los parámetros químicos y biológicos. Rucker y Amend han establecido que la trucha Rainbow expuesta a 60 ppb de etil mercurio por una hora diaria durante 10 días contiene niveles de mercurio de 4,000 a 17.000 ppb en los musculos y en el tejido hepatico. Miettinen (78) el sojo del norte y la trucha Rainbow son capaces de asimilar y concentrar en sus tejidos musculares, metil mercurio unido a los alimentos ingeridos. Tambien se han esbosado algunas teorías para explicar el mecanismo por el cual se concentra el metil mercurio a cada nivel trófico de la cadena alimenticia. Una de esas teorías es que tiene lugar una serie de transferencias durante las cuales el metil mercurio del agua es tomado por el fitoplacton ingerido por el zooplacton y consumido por el pez comestible. Hamilton (86) recientemente ha puesto en evidencia que los niveles en los organismos de peces alimenticios aumenta en cada nivel trófico de la cadena alimenticia. Otra teoría sugiere que el metil mercurio y la bacteria que los produce son consumidos por organismos del conjunto del fondo del oceano que no son placton y que han sido tomados del fondo por peces comestibles que a su vez son presa de peces picivoros. En tanto que el mecanismo de la acumulación del mercurio no es claro obviamente -

es función de uno o mas de los factores siguientes: La taza metabólica de un pez determinado, las diferencias en la selección de los alimentos cuando el pez madura o el área de la superficie epitelial del pez. Tal parece que el mecanismo actual completo es una combinación compleja de esos parámetros. No hay evidencias claras que expliquen como las distintas especies de peces acumulan el mercurio. Sin embargo generalmente las especies predadoras como el gran soyo de norteamérica (*Esoxmasquinongy*) y el soyo del norte (*Esox lucius*), lenguado (*Stizostedion vitrium*) y esturion del lago (*Acipenser fulvescens*) acumulan las mas altas cantidades de mercurio en tanto que los peces herbivoros como las del género (*Ictalurus melas*), carpa (*Cyprinus carpo*) y (*Dorosoma cepedianum*), Sábalo (*Mooxostoma anisurum*) acumulan muy poco. Se comprende que son categorías demasiado amplias porque en tanto que el mecanismo de la acumulación del mercurio y su concentración en el pez no ha sido bien explicado cuando menos envuelve siete factores distintos: la especie del pez, el intervalo de exposición, el grado de polución-mercurica, la edad y el tamaño del pez, su taza metabólica, las diferencias en la selección de alimento. Cuando el pez madura y el área de la suprficie epitelial del pez. Además el proceso de magnificación biológica es afectado tambien por las diferentes cualidades del agua incluyendo temperatura, pH, restos de polución orgánica, dureza, alcalinidad proporción de metales pesados y oxigeno disuelto. El mecanismo de acumulación es un complejo de todos estos parámetros químicos y biológicos. En suecia Berg usó el procedi---

miento por activación neutrónica para analizar el contenido de mercurio en las plúmas y en la piel de aves guardadas en diversos museos de las Universidades escandinavas. Fueron capaces de relacionar un aumento marcado en el contenido mercurico de las plumas de las aves que se alimentaron con granos con la introducción de fungicidas alquil-mercuricos cuando el grano fue tratado a principios de 1940. Además se demostro un lento pero significativo aumento en el mercurio de las plumas de aves piscivoras despues de 1900. Estos señores han pensado que quizá este aumento de niveles de mercurio en las aves piscivoras va paralelo con el crecimiento industrial de suecia. Y las esperadas perdidas crecientes de mercurio en el medio ambiente.

EFECTO DEL CALOR EN EL PROBLEMA DE LA MAGNIFICACION BIOLOGICA.

La temperatura juega un papel importante en el ciclo vital de todos los organismos acuaticos. Y con las exigencias crecientes de energia electrica se hace mas importante cada vez darse cuenta del impacto que tienen las grandes masas de agua caliente en la dinamica organica e inorganica de los compuestos mercuriales en lagos y corrientes acuosas. No hay accesibles para poder predecir el efecto del calor en los problemas del mercurio en el medio ambiente, pero son obvias las siguientes observaciones: lo. La fisiologia de todos los organismos acuaticos es afectada directamente por la temperatura y su efecto se manifiesta por el aumento de las tazas del metabolismo y en la actividad creciente de cada uno de los organismos respectivos. Esta mayor taza de metabolismo puede -

acelerar también la de acumulación de mercurio o compuestos organomercuricos en los organismos acuáticos, 2o. El agua más caliente puede no solo estimular el crecimiento del alimento de los peces sino también ampliar la duración de las actividades alimenticias hasta los meses fríos. (151-156) Puesto que los niveles de metil mercurio en el pez están en relación directa con su tamaño -- y deben esperarse más altos niveles de mercurio en esos peces. -- 3o. Temperaturas más altas del agua estimulan el crecimiento de las bacterias. De aquí que si la metilación biológica del mercurio a metil mercurio es una función de las concentraciones de bacterias, deben esperarse niveles más altos de metil mercurio en los organismos que se alimentan de estas bacterias. 4.- La conversión química de las diversas formas de mercurio a ión mercurico -- son favorecidas a temperaturas altas son favorecidos a temperaturas altas. De ahí que el ión mercurico requerido por el proceso de metilación biológica es más accesible. 5.- Todas las formas de mercurio especialmente las metil mercuricas son más solubles a -- temperaturas bajas y por lo tanto más fácilmente accesibles a los organismos del ecosistema acuático.

FORMAS DE TOXICIDAD DEL MERCURIO PARA LOS ORGANISMOS ACUATICOS.

Hay varios reportes que resumen la toxicidad de los compuestos de mercurio en los organismos acuáticos (94-100).

La acción tóxica aguda de los iones mercuricos perjudica los tejidos de las agallas y la formación de una capa de moco coagulado que llena los espacios interlaminares e impide el movimiento.

to normal de los filamentos de la agalla. Por lo tanto el contacto necesario entre los tejidos de la agalla y el agua queda interrumpido y por lo tanto tambien el cambio gaseoso al grado de que el pez muere por asfixia (101) Lloyd atribuye (102) la asfixia a la ruptura y al inclinamiento del epitelio de la agalla que destruye su habilidad para el intercambio de gases. Además Meyer --- (103) demostró que el ión mercurico inhibe la captura activa de sodio en las agallas; y así causa una perdida creciente del sodio para el pez. Beckstrom (106) reporta que ha notado que como son hipertónicos los peces de agua fresca deben disponer continuamente del agua que absorben osmoticamente y reemplazar las sales --- que pierden tanto por difusión como por excreción. De ahí que --- cualquier obstáculo en el aprovechamiento del sodio a través de las agallas por la acción del mercurio puede ser muy dañina para el pez.

Es evidente que por los niveles bajos de mercurio la acción crónica o semicrónica de los compuestos de mercurio especialmente los lípidos solubles organo mercuriales pueden no reaccionar destructivamente con la membrana de las agallas. Entonces mucho del mercurio se absorbe en la sangre y otros tejidos internos del organismo. Además si diferentes formas de mercurio actúan de manera similar en los organismos acuáticos, que en los mamíferos y en -- las aves.

Por su mayor solubilidad en los líquidos, sin embargo; los alquilmercuriales especialmente el metil mercurio se acumula en -

los globulos rojos y en el sistema nervioso central. Tambien puesto que los alquilmercuriales son estables de por si, la degradación del metil mercurio a la forma mercurica requerida, para la eliminación, por los organismos acuaticos es minima.

Las concentraciones dentro de un margen muy amplio en el que el mercurio es toxico para los organismos acuaticos indica que los factores fisicos y químicos tanto como los variables del ambiente afectan el grado de toxicidad de un determinado compuesto mercurico.

En general las toxicidades han demostrado ser función de varios parametros, de la calidad del agua, temperatura, pH, depositos de polución organica, dureza, alcalinidad, deposito de metales pesados y oxigeno disuelto. Aun mas la toxicidad relativa del mercurio para los organismos acuaticos varia ampliamente con las especies, su periodo de vida, y el estado en que se encuentre el aclimatamiento de los animales a las condiciones. Ademas de que es extraordinariamente dificil estimar la toxicidad del mercurio o cualquiera de sus compuestos para los organismos acuáticos.

Carpenter (106) establece que no hay limite toxico bajo para la toxicidad de las sales de los metales pesados y que aun bastan huellas de cloruro mercurico para que sean toxicas para los peces si la exposición es suficientemente larga.

Boetins (106) apoya esta conclusión en parte sin embargo; puesto que la naturaleza venenosa del mercurio es acumulativa se debe acumular una cantidad suficiente para producir efectos letales

en un organismo determinado. Boetins tambien establece que el producto de concentración del ión mercurico y el tiempo de supervivencia de determinadas especies es una constante en función de la especie del peso del cuerpo, del periodo de la vida y de las propiedades fisicas y quimicas de su eco sistema acuatico.

ESTUDIOS SOBRE LA DISTRIBUCION DEL MERCURIO EN LOS ORGANISMOS ACUATICOS. POR MEDIO DE ISOTOPOS RADIOACTIVOS.

Los isotopos radioactivos han sido ayudantes de gran importancia en los estudios de absorción y eliminación de mercurio, por los organismos acuaticos. Hibiya y Oguri usaron isotopos de mercurio en el estudio de la proporción de absorción por las agallas de la anguila japonesa y encontraron una proporción de absorción de $(0.3 - 3.2) \times 10^{-5}$ mg por hora.

Backstrom (104) determino con técnicas autoradiográficas la distribución del mercurio radioactivo, metil mercurio y nitrato de metil mercurio en el pez, *Essox lucius*, en el Salmón salmo solar y en la trucha manchada, sus datos ponen de manifiesto que las inyecciones de metil mercurio van originando un aumento constante del mercurio en los musculos y en el cerebro del pez. En tanto que la inyección de nitrato mercurico y nitrato de fenil mercurio dan por resultado una absorción principalmente en los riñones, el baso y el hígado. En un estudio sobre la distribución de mercurio 203 como isotopo en metil mercurio y fenil mercurio en el *Essox lucius* Okmono (98) establecieron que la actividad en el estomago permanece grande por tres semanas aunque va decreciendo lentamente.

te despues de la primera semana cuando el nitrato de metil mercurio se administraba por la boca por medio de una inyección con -- sonda plastica.

La radioactividad en la carne alcanza su maximo en una -- semana y aún despues de tres semanas casi el 50% del metil mercurio administrado se localizó en la carne. Además la radioactividad de todos los otros organos continua solo aumentando cuando menos tres semanas despues de la administración. Contrariamente el nitrato de fenil mercurio se concentra principalmente en el estomago los intestinos y el hígado.

Por lo tanto el nitrato de metil mercurio se reparte rapidamente y ampliamente por todos los organos y tejidos del pez, en tanto que la distribución total del nitrato de fenil mercurio es mucho menos. Tres semanas despues de su administración mas del -- 70% de nitrato de fenil mercurio se encuentran todavia en los organos digestivos y en los riñones pero no se observa en el sistema nervioso. Además la toxicidad y los esquemas de distribución del metil mercurio fueron iguales tanto para el nitrato de metilmercurio ionico (libre) y el nitrato de metil mercurio unido a -- proteina que se produjo por reacción del nitrato de metil mercurio ionico con un homogenizado de hígado bovino.

Se demostro la duración de la vida media biologica de algunos compuestos mercuricos en los organismos acuaticos por Miettiner (109-114) estudiaron la distribución del mercurio del nitrato fenil mercurico en los peces en las ostras y en los molus--

cos en los cangrejos, en las jaibas y en las focas. La vida media-biologica del mercurio en estos habitantes acuaticos se determino-radiograficamente con mercurio 203. El isotopo se administró a los animales por la boca y por inyección. Para los peces lenguado, es-carcho, perca y anguilas, la vida media del metil mercurio varía -entre 100 y 103 días; para el nitrato de fenil mercurio entre 58 y 190 días. En todos los casos en un periodo de expresión rapido si-gue otro de eliminación muy lenta del mercurio. En otros organis -mos acuaticos la vida media del nitrato de metil mercurio varia en-tre 27+ 13 y 500 dias para el nitrato de fenil mercurio y nitrato mercurico estos valores estan entre 10 y 43 días.

TOXICIDAD DEL MERCURIO EN LOS SISTEMAS DE AGUAS FRESCAS.

Con respecto a la toxicidad del mercurio inorganico en la -forma de ion mercurico, estudios a corto plazo indican que las con-centraciones de una parte por millon son fatales para el pez (106-114,115) Exposiciones largas de 10 dias o mas con niveles de mer--curio de 10 a 20 ppb han sido fatales para los peces. Uspenskaya - (116) dejó establecido que concentraciones de 10 a 20 ppb de mer--curio son fatales para los Phoxinus en 80-92 y 19-32 dias respec-tivamente.

Desde 1914 cuando empezaron a usarse en la agricultura los-organomercuriales, cantidades crecientes se han perdido en el am-biente. En tanto que los organomercuriales son mas toxicos que los inorganicos para los organismos acuaticos, los peces son capaces -

de sobrevivir en concentraciones relativamente mayores con efectos dañinos por periodos cortos de tiempo.

En investigaciones recientes (78) se ha visto que las diferencias de absorción primeramente son debidas a las diferentes propiedades químicas tanto como a la degradación fisiológica de cada compuesto mercurico.

Algunos autores concluyen que el mecanismo del transporte de el mercurio es afectado por su acidez. Jackim (141) investigaron los efectos de los envenenamiento por mercurio en cinco enzimas del higado del *Fundulus heteroclitus*; fosfatasas acidas y alcalina, catalasa, oxidasa, zantina, y ribonucleasa. Despues de que fueron estas enzimas tratadas con mercurio se determinaron sus efectos por bioensayes, despues de 96 horas.

Los resultados difieren significativamente a los de los peces no expuestos. Por lo tanto se sugirio que observando los cambios en la actividad enzimatica del hígado se pueden obtener métodos útiles en la autopsia para diagnosticar el envenenamiento subletal en el pez.

MERCURIO EN EL SISTEMA ECOLOGICO MARITIMO.

Toxicidad del ion mercurico.- Se sabe muy poco acerca del mercurio en el agua de mar que se encuentra principalmente como iones de complejo aniónico HgCl_3^- y HgCl_4^{2-} , que no parecen absorber una materia particular tan facil como las forma cationicas que se encuentran en el agua fresca dulce. El promedio de la concentra

ción de mercurio en el agua de mar se ha dado como 0.03 ppb, pero hay gran variación dependiendo de la localización de la toma de la muestra.

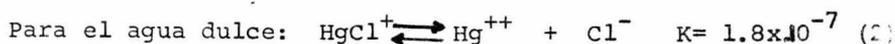
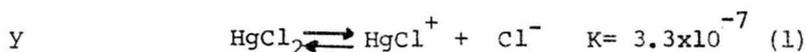
Varios investigadores han dado a conocer que los efectos tóxicos del cloruro de mercurio decrece en el ambiente marino, -- primero por los cambios del ión mercurico en los diferentes casos. Los datos muestran que la toxicidad del cloruro mercurico aumenta al elevarse el nivel del cloruro de sodio a 2000 ppm aproximada-- mente. En cuanto el nivel del cloruro de sodio se aumenta, más, la toxicidad del cloruro mercurico disminuye.

Los efectos tóxicos mínimos fueron con concentraciones de cloruro de sodio de aproximadamente 16000 ppm., además el nivel de cloruro de sodio que tiene el agua de mar es de aproximadamente -- 22000 ppm.

El cloruro mercurico es un compuesto covalente que se le -- denomina como ácido de Lewis. En ambiente de agua dulce o destilada se disocia muy levemente. Así predominarían las moléculas de HgCl_2 mientras que las especies cationicas HgCl^+ y HgCl^{++} se encuentran en mucho mayor cantidad, y además los iones de cloro están tan firmemente unidos que solo se encuentran en las especies anionicas HgCl^{3-} y HgCl^{4-} .

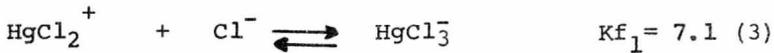
Las ecuaciones son:

En agua destilada:



Cuando hay iones cloro adicionales accesibles en el ambiente marino las condiciones de equilibrio descritas, viran a la izquierda, lo cual disminuye la concentración total de HgCl^+ y Hg^{++} en solución y favorece la formación de cloruro mercurico no disociado, así como la de complejo anionico de ion mercurico y HgCl_3^- y $\text{HgCl}_4^{=}$, que se pueden representar en las ecuaciones siguientes:

Son para el agua destilada y agua dulce simultaneamente:



Por lo tanto la estequiometria total englobada en el ambiente marino podría ser:



Donde M representa al metal catiónico, casi siempre ión sodio.

Una serie de estudios mostraron una amplia variación en los niveles de toxicidad entre los organismos marinos diferencias que dependen tanto de la especie maritima como de la forma química del mercurio North (156,157) dan niveles entre 500 y 1000 ppb. como -- cloruro mercurico que causan respectivamente de 500 a 600% de disminución de la actividad fotosintética de la *Macrocystis pyrifera* despues de 96 horas.

Además Harris (143) establece que concentraciones de 0. -- ppb. de organo mercurales en fungicidas seleccionados disminuyen la fotosíntesis y el crecimiento de los cultivos de laboratorio -- de la *Nitzschia delicatissima* marina así como de algunas especies --



QUIMIO.

de fitoplacton de agua dulce.

Ukeles encontraron que el fosfato de etil mercurio es letal para el fitoplacton marino a 60 ppb; y que niveles menores de 0.6-ppb. limitan enormemente el crecimiento de estos organismos.

Hoffman (164) estudia la concentración letal mínima de compuestos organicos e inorganicos de mercurio para fito y zooplac---ton, que el zooplacton recogido en verano es mas resistente que -- el recogido en primavera, aunque es una razón lineal el tiempo de exposición contra conceñtración, se piensa que la absorción, tiene papel importante.

C A P I T U L O III

P A R T E E X P E R I M E N T A L

PARTE EXPERIMENTAL

En la presente Tesis el objeto principal fué, la de hacer - la determinación cmmparativa de mercurio en atún enlatado mediante dos métodos de medición:

- I.- Espectrofotométrico por extracción con ditizona
- II.- Determinación por Absorción Atómica.

El número de muestras que se analizaron, fueron disciseis - latas de atún de ocho diferentes marcas que se muestrearon de va - rios supermercados.

El análisis cuantitativo de residuos de mercurio en materia alimenticia consta en general de los siguientes pasos:

- I.- Digestión húmeda de la muestra
- II.- Neutralización de la muestra.
- III.- Extracción de mercurio con ditizona
- IV.- Determinación cuantitativa

El tercer paso queda excluido para el método de Absorción - Atómica, puesto que la lectura de directa en concentración en el - aparato.

Se hizo una sola digestión de cada muestra, y se determinó - cuantitativamente el mercurio de cada muestra, y se determinó cuan - titativamente el mercurio por ambos métodos a cada muestra.

A continuación se describen las técnicas seguidas para la - determinación cuantitativa por ambos métodos.

1.- Digestión Húmeda con Mezcla Sulfonítrica y ácido Perclórico.

Para efectuar la digestión de la muestra, debe de tenerse el aparato adecuado como el que se muestra en la figura el cual consta esencialmente de matraz redondo de dos bocas, dos embudos de adición (para los ácidos), refrigerante con recirculación de agua, canasta de calentamiento y reostato para regular la temperatura.

Es muy importante en la digestión de la muestra, el aparato utilizado y la regulación de la temperatura de reacción, debido a que los compuestos de mercurio que se encuentran presentes en el matraz de reacción son muy volátiles, por esto debe de controlarse la temperatura de ebullición y ver que el refrigerante resulte eficiente en cuanto a enfriar y condensar y así evitando que escapen los vapores.

Técnica de Digestión

Reactivos.- Todos los reactivos utilizados deben de ser grado reactivo Analítico. libres de Metales pesados.

- 1.- Acido Nítrico Concentrado R.A.
- 2.- Acido Perclorico al 72% R.A.
- 3.- Acido Sulfurico Concentrado R.A.
- 4.- Oxido de Selenio
- 5.- Piedras de ebullición de Porcelana.

Se pesaron 50 gramos de muestra base húmeda y se pusieron en el matraz de reacción, adicionando 0.1 gramos de oxido de sele-

A.- Embudo de adición para
mezcla Sulfonitrica

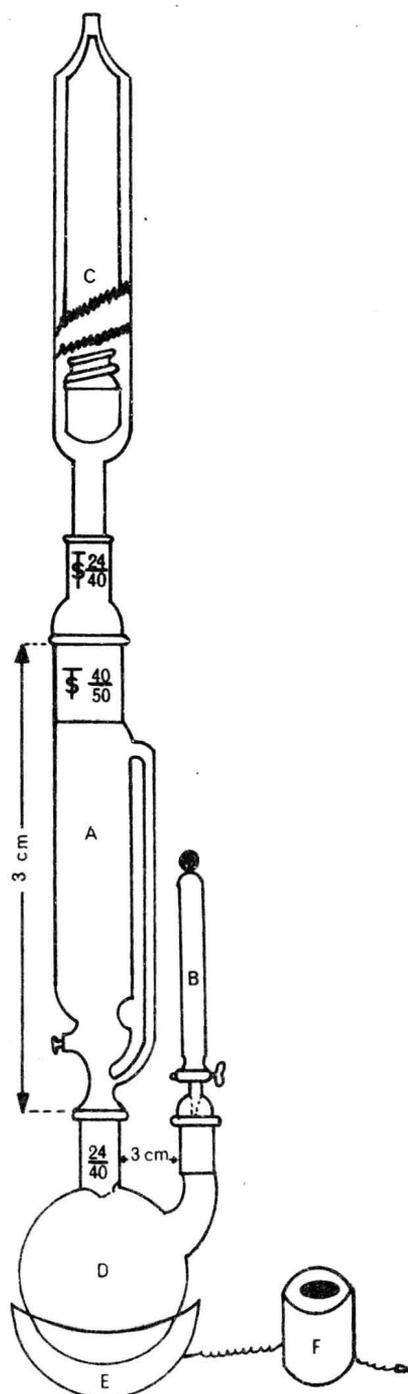
B.- Embudo de adición para
Acido Nitrico

C.- Refrigerante

D.- Matraz de bola de 2 Bocas

E.- Canasta de Calentamiento

F.- Reostato



APARATO ESPECIAL DE DIGESTION

nio, piedras de embullición y se agregaron en frío 25 ml. de mezcla sulfonítrica (1:1) lentamente por espacio de 10 minutos; debe de tenerse cuidado de controlar la espuma que se forma al producirse la oxidación de la materia orgánica, agitando de vez en cuando. Una vez que se ha terminado de reaccionar, en frío se agrega un volumen adicional de 30 ml. de ácido nítrico concentrado pa ra completar la oxidación. Cuando ha terminado de reaccionar en frío, se calienta durante treinta minutos la mezcla de reacción aproximadamente a 70 grados centígrados hasta eliminar vapores nitrosos: teniendo en cuenta el control de la temperatura.

Cuando los sólidos del matraz de reacción hubieron desaparecido totalmente; en frío se agregaron 15 ml. de ácido perclórico al 72% (para poder agregar el ácido perclórico no debe de haber residuos de materia orgánica, pues éste es explosivo al contac to con ella) y se calienta por espacio de una hora a una temperatura aproximada de 70 grados Centígrados.

Una vez que terminó éste tiempo el matraz de reacción se dejó enfriar y la solución digerida quedó de un color amarillo claro. Después se procedió a desmontar el aparato, lavando con varias porciones de 50 ml. de agua tridestilada el refrigerante y cada uno de los embudos de adición, quitando por último la grasa que queda como sobrenadante en la solución digerida, desechando la grasa y neutralizando la solución digerida con 10 ml. de solución de cloruro de hidroxil amonio al 20% y aforando a 500 ml. -- con agua tridestilada en matraz aforado.

Estando aforada ésta solución, estuvo lista para determinar se le cuantitativamente la cantidad de mercurio, por los dos métodos mencionados anteriormente (166).

DETERMINACION ESPECTROFOTOMETRICA Y EXTRACCION CON DITIZONA.

Este método para determinar residuos de mercurio en materia orgánica (165) envuelve oxidación húmeda con mezcla sulfonitrica y ácido perclorico y determinación espectrofotométrica de mercurio con ditizona. éste método ha sido recomendado como método oficial o estandar prr la Joint Mercury Panel.

El uso del ácido perclorico permite una completa oxidación que no sucede solamente usando mezcla sulfonítrica (167). Aunque el ácido perclórico hace más volátiles los compuestos de mercurio pero si se usan condensadores eficientes, se logra evitar pérdida de mercurio.

REACTIVO.- Todos los reactivos utilizados fueron grado reactivo -- analítico y libres de metales pesados y de otras impurezas que reaccionaran con la ditizona. El agua utilizada fué tridestilada.

1.- Acido Clorhidrico 0.1 N.

Se utilizaron 10.5 ml. de ácido clorhidrico grado suprapuro y se aforaron a 1000 ml. con agua tridestilada.

2.- Solución acuosa de cloruro de hidroxil amonio al 20%.

Se pesaron 20 gramos de cloruro de hidroxil amonio y se diluyeron a 100 ml. con agua tridestilada. Esta solución fué purificada de la siguiente manera: Se transfirió la solución a un embudo

de separación; Se le adicionó unos cuantos mililitros de solución tipo de ditizona. se agitó por dos minutos y se dejó que se separaran las capas. Se quitó la capa orgánica; se repitió la extracción con ditizona, hasta que la capa orgánica tuvo el color de la solución de la ditizona pura. Finalmente se extrajo la solución con pequeñas porciones de tetracloruro de carbono, hasta que el extracto sea incoloro.

3.- Solución acuosa de nitrido de sodio al 5%.

Se pesaron 5 gramos de nitrito de sodio y se disolvieron en 100 mililitros de agua tridestilada.

4.- Solución acuosa de urea al 10%

Se disolvieron 10 gramos de urea en 100 ml. de agua tridestilada.

5.- Solución acuosa de EDTA (Sal disódica del etilen diamino tetracético dihidratado al 25%.

Se pesaron 25 gramos de la sal disódica de EDTA dihidratada y se disolvieron en 100 ml. de agua tridestilada.

6.- Solución de ácido acético 4N.

Se tomaron 22.9 ml. de ácido acético concentrado y se diluyeron a 100 ml. con agua tridestilada.

7.- Solución de ditizona al 0.05%.

Se preparó la solución pesando 0.05 gramos de ditizona disolviendola en 100 ml. de cloroformo. Esta solución fué almacenada en botella oscura y en el refrigerador.

8.- Solución diluida de ditizona en tetracloruro de carbono

Se tomaron dos mililitros de la solución de ditizona al 0.05% y se aforaron a 100 ml. con tetracloruro de carbono.

9.- Solución diluida de ditizona en cloroformo.

Se tomaron dos mililitros de la solución de ditizona al 0.05% y se aforaron a 100 ml. con cloroformo. En cada determinación estas dos soluciones deben estar recién preparadas.

10.- Cloroformo.-

Este disolvente fué grado suprapuro o grado espectro.

11.- Tetracloruro de carbono.

Este disolvente también fue grado suprapuro o grado espectro.

12.- Solución estandar de mercurio.

Se preparó disolviendo 0.1354 gramos de cloruro mercúrico en un litro de ácido clorhídrico 0.1N.

1 ml. de solución = 100 microgramos de mercurio-

13.- Solución diluida de mercurio.

Se tomaron 10 ml. de la solución estandar de mercurio y se diluyó a un litro con ácido clorhídrico 0.1N.

1 ml. de Solución = 1 microgramo de mercurio.

14.- Sulfato de sodio R.A.

15.- Algodón.

Una vez que se tuvieron todos los reactivos preparados y purificados se procedió a hacer diferentes pruebas de extracción de mercurio produciendo el complejo ditizonato de mercurio de color naranja y probando el tiempo de duración del complejo o sea

la estabilidad del complejo tanto en tetracloruro de carbono como en cloroformo y se dedujo que el tiempo de mayor estabilidad del complejo era a los quince minutos de haberse producido la coloración, tanto en cloroformo como en tetracloruro de carbono, pero - pasando una hora de haberlo formado empezaba a desaparecer la coloración gradualmente, siendo el complejo en cloroformo el que -- pierde más rápido la coloración.

Y después el de tetracloruro de carbono. Aproximadamente en doce horas desaparece totalmente de coloración de la solución.

Además se trató de buscar disolvente más apropiado para po der desarrollar el complejo y se encontró que con tetracloruro de carbono se tuvieron menos problemas en cuanto a emulsificación y - fué mayor la cantidad de mercurio extraído. También se comprobó - la longitud de onda adecuada para cada uno de los disolventes, - la cuál fué de 485 mm. para tetracloruro de carbono y 492 para -- cloroformo.

Una vez que se tuvieron todos estos parámetros bien defini dos se procedió a elaborar la curva estandar dentro de un rango - de concentración de 0.5 mcg. a 3 mcg. de mercurio. Se tuvo que hacer va rias veces esta curva para saber la cantidad de ditizona utilizada pa ra extraer cierta concentración de mercurio; tanto en ditizona en cloroformo como para ditizona en tetracloruro de carbono.

Se vió que la diferencia que existe entre los dos disolven tes para extraer el mercurio de muy poca a excepción del problema

que presenta la ditizona en cloroformo y que tarda tiempo para la separación de las capas.

Curva Estandar.

Para la elaboración de la curva estandar se utilizó el siguiente material:

- 1.- Embudos de separación
- 2.- Porta embudos
- 3.- Pipetas de 10 ml.
- 4.- Pipetas de 1.2 y 3 ml.
- 5.- Embudos de filtración chicos
- 6.- Matraz aforado de 10 ml.

Técnicas de elaboración de Curva estandar.

Una vez que se preparó la solución tipo de cloruro mercúrico de concentración de 100 ppm (partes por millón) ; de ésta solución se hicieron diluciones cubriendo un rango de 0.5 a 3 mcg/ml de mercurio.

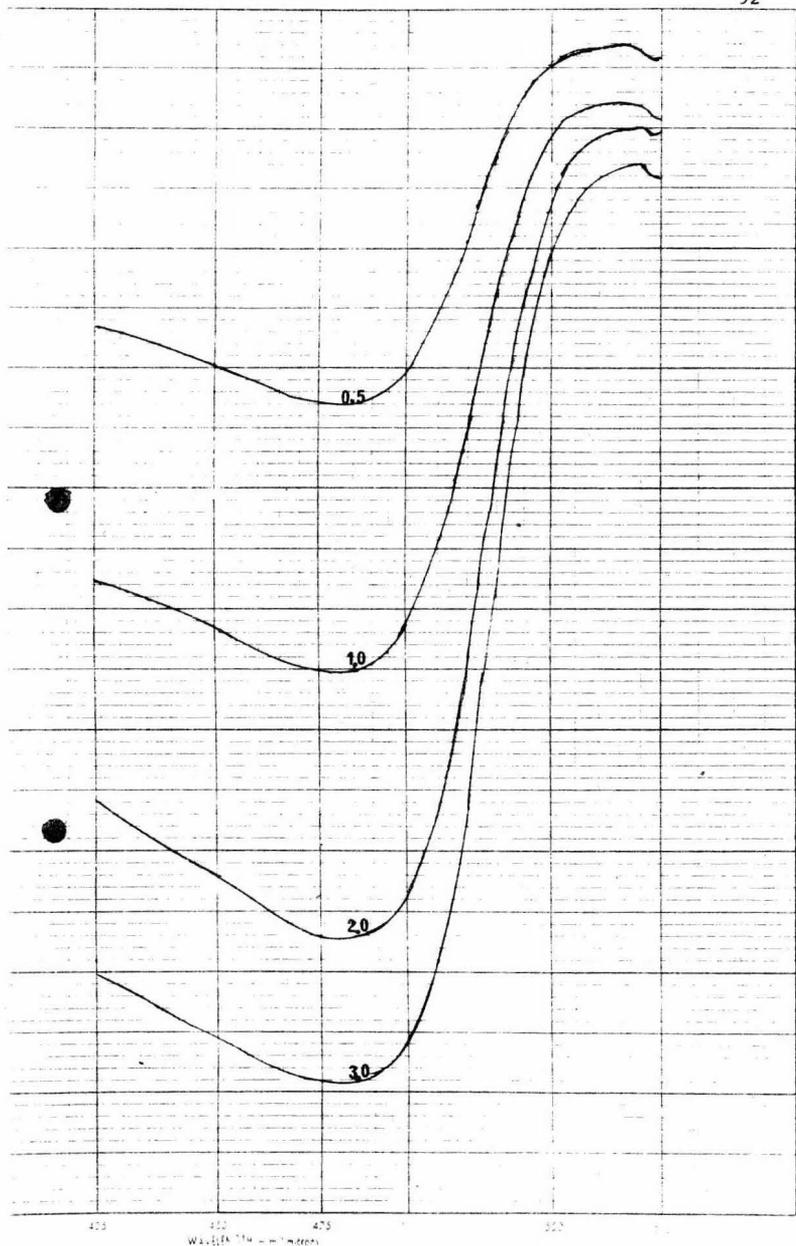
Se transfirieron alícuotas de solución tipo de cloruro mercurico a una serie de embudos de separación cubriendose un rango de 0.5 a 3 mcg/ml. de mercurio y diluyendo cada embudo con 10 ml. de ácido clorhídrico 0.IN. y adicionando ademas a cada embudo las soluciones siguientes: un mililitro de solución de nitrito de sodio al 5%, agitando, un mililitro de solución de cloruro de hidroxil amonio al 20%, agitando y dejando reposar 15 minutos. Después de éste lapso de tiempo, se adicionó un mililitro de solución de-

EDTA al 2.5%, se agitó y se adicionaron 3 ml. de solución de ácido acético 4N. para regular el pH al cual actúa la ditizona con mercurio.

Una vez que se le agregaron todos estos reactivos, se fué adicionando a cada embudo la ditizona de mililitro en mililitro.- En cada adición se agitó y se dejó reposar, hasta que las capas - estuvieran completamente separadas, una vez que estuvo bien definida la separación de las dos capas, se descargó el complejo formado de color naranja sobre un matraz aforado de 10 ml. con un embudo que contenía algodón y sulfato de sodio; se hizo pasar el - complejo a través de esto; una vez descargada esa primera capa, se vuelve a repetir la operación de adición de ditizona hasta agotar el mercurio que se encuentra presente en la solución. Cuando la - ditizona ya no reaccionó con la solución y quedó ésta de color -- verde ese exceso ya no fue adicionado al complejo formado (ditizonatodemercurio).

El complejo una vez que estuvo filtrado en el matraz aforado de 10 ml., se aforó a la marca con el disolvente en el cuál estuvo desuelta la ditizona.

Cuando se obtuvo cada una de las concentraciones aforadas- todas a 10 ml. se procedió a leer la absorbencia en un Espectrofotómetro Beckman DK-2 con graficador, a continuación se pueden apreciar las graficas obtenidas al leer en el espectrófotometro y la curva de calibración ya graficada en papel milimetrico; como el papel -



SAMPLE **mercurio**

0.5 gamas

1.0 "

2.0 "

3.0 "

curva de cali-
bracion

CONC. **1** cm

PATH

ORIGIN **600 nm**

SOLVENT **CCl_4**

REF. SOLVENT

CCl_4

λ SPEED **MIN**

SCALE **0 - 100**

SENS **0**

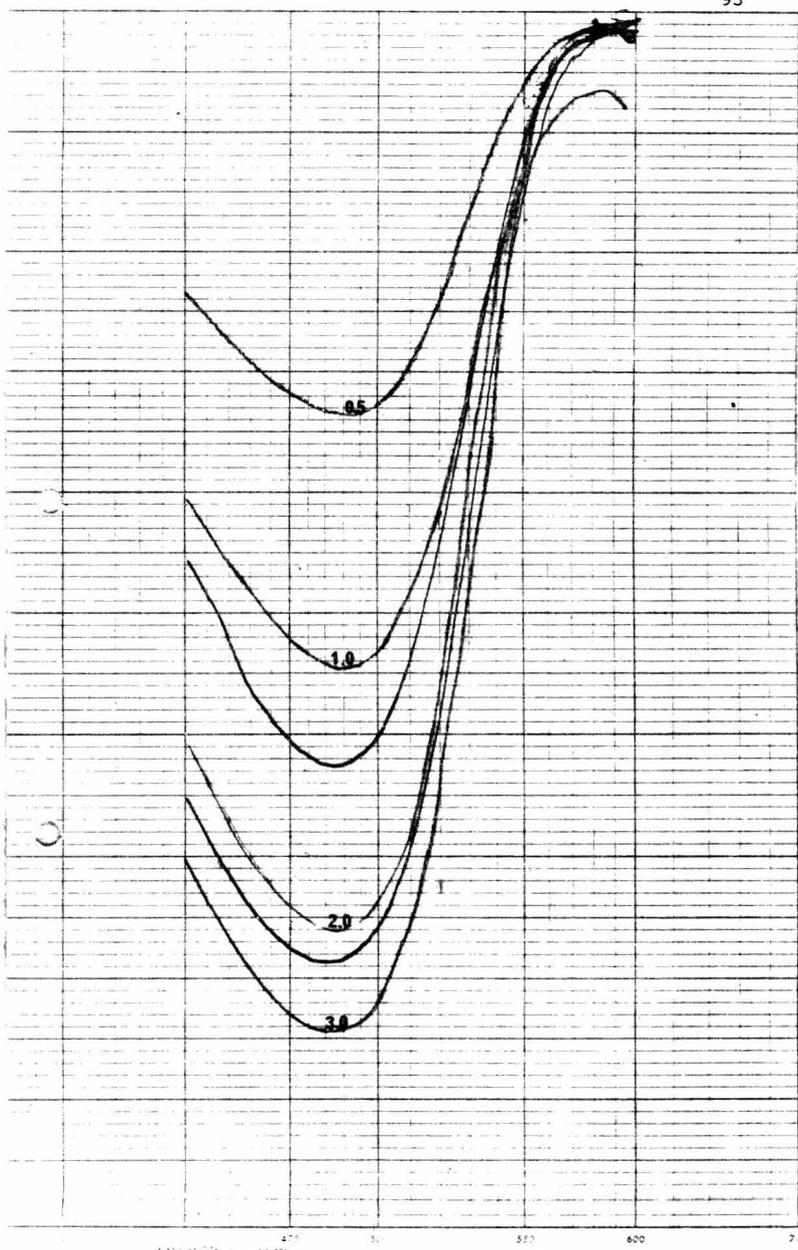
PERIOD

T. H PM PBS

ANALYST **MEB**

DATE **11-2-75**

93



SAMPLE curva estandar de mercurio en cloroformo

0.5 ppm
1.0 "
2.0 "
3.0 "

CONC. 1 cm
PATH
ORIGIN 600 nm
SOLVENT CHCl₃

SOLVENT
REF. CHCl₃

λ SPEED _____ MIN _____

SCALE 0-100

SENS 0

PERIOD _____

T. H FM PBS

ANALYST MEBC

DATE 13-2-75

en el cual grafica el aparato dá la lectura en transmitancia hubo que convertir cada una de las lecturas a absorbencia y en estas - unidades esta expresada la curva de calibración o sea Absorbencia contra concentración en partes por millón (mcg/ml.)

En siguientes tablas I y II se dan los valores obtenidos - (T y A) para la curva de calibración y los mililitros de ditizona utilizados para extraer cada una de las concentraciones de mercurio, la tabla I para tetracloruro de carbono y la tabla II para cloroformo.

T A B L A I

mcg/ml. de Hg.	% T	A	ml. de ditizona para extraer.
0.5	67.5	0.1739	2 ml.
1.0	45.0	0.3487	4 ml.
2.0	22.2	0.6421	6 ml.
3.0	12.0	0.9666	9 ml.

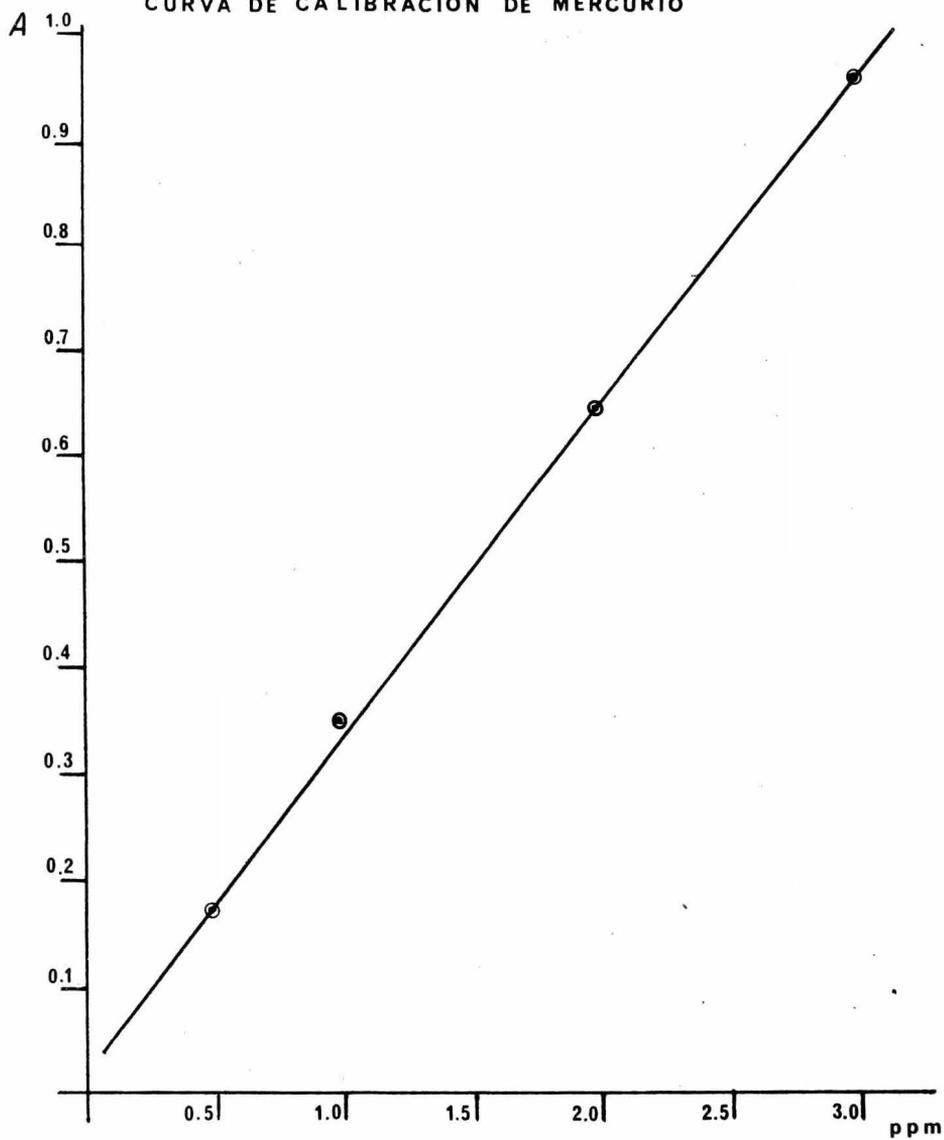
Curva de Calibración de mercurio
en tetracloruro de carbono.

T A B L A II

mcg/ml. de Hg.	% T	A	ml. de ditizona para extraer.
0.5	66.2	0.1791	2 ml.
1.0	45.5	0.3420	3 ml.
2.0	24.0	0.6198	5 ml.
3.0	15.6	0.8059	7 ml.

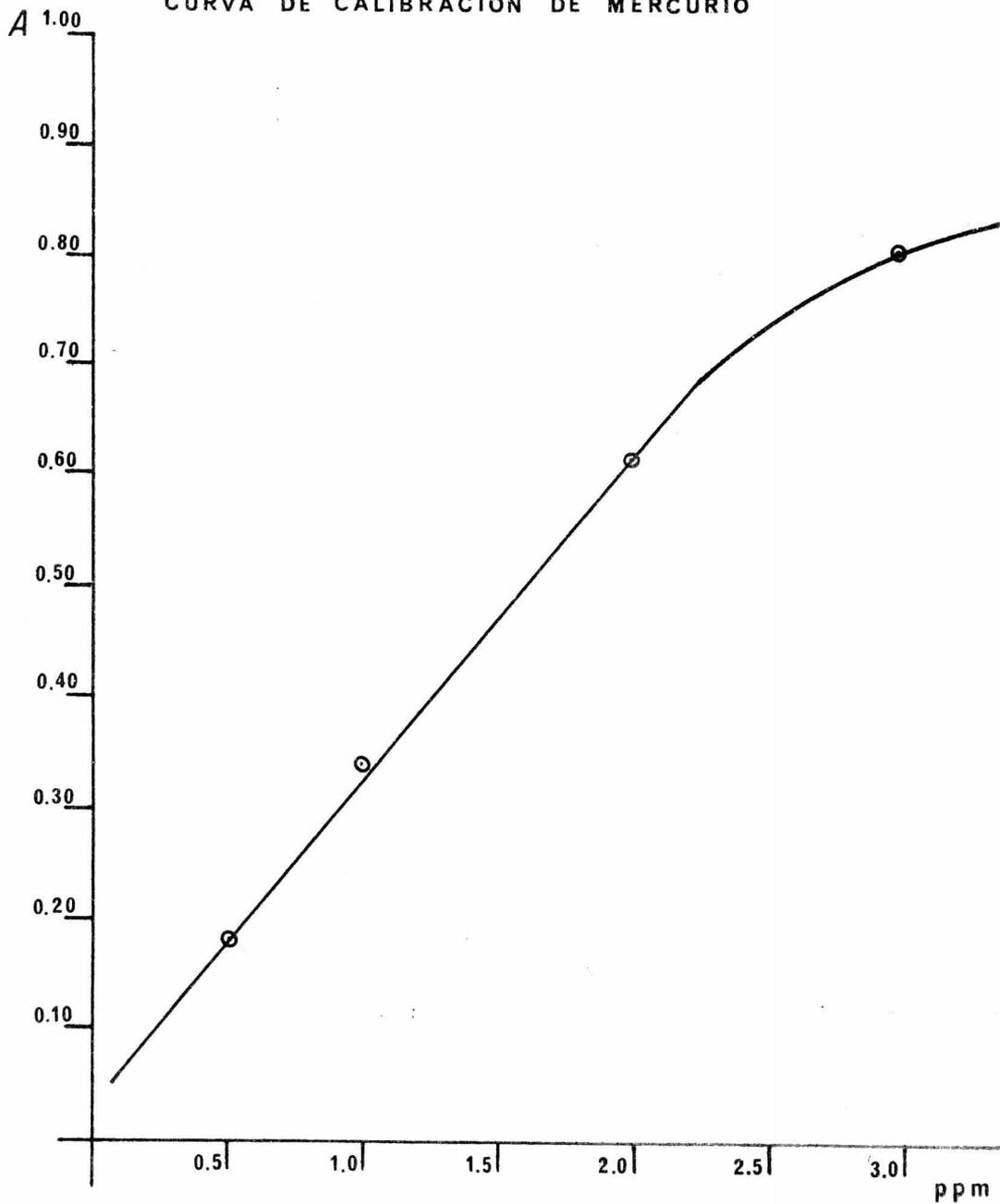
Curva de Calibración de mercurio
en Cloroformo.

CURVA DE CALIBRACION DE MERCURIO



DITIZONA EN TETRACLORURO DE CARBONO
485 nm

CURVA DE CALIBRACION DE MERCURIO



DITIZONA EN CLOROFORMO

490 nm

La longitud de onda para tetracloruro de carbono fué de 485 mm. y para cloroformo de 492 mm.; como blanco de calibración se uso cada uno de los disolventes puros.

En ambas curvas de calibración puede observarse como para la concentración arriba de tres partes por millón, el aparato no alcanza a leer la concentración pues resulta ya elevada.

EXTRACCION DE MERCURIO EN MUESTRAS DIGERIDAS.

Una vez que se tuvo la digestión de las muestras y la curva estandar ya elaboradas se procedió a hacer la extracción de mercurio de cada problema en igual forma que en la curva estandar.

Se hicieron varios ensayos en los problemas extrayendo mercurio y se vió que se tenian que tomar alícuotas de 50 ml. para cada muestra, además si se aforada a 10 ml. como en la curva estandar la coloración no se podia apreciar, lo suficiente como para leerse en el espectrofotometro, por lo que se decidió aforar a un volumen más pequeño de 5 ml. para poder obtener una lectura correcta.

Se procedió a extraer a cada muestra el mercurio de la siguiente manera:

Se tomó una alicuota de 50 ml. con pipeta volumétrica de la solución digerida y se pusieron en un matraz de separación de 250 ml. y se agregaron: 10 ml. de ácido clorhídrico 0.1N., 1 ml.

de nítrito de sodio al 5%, agitar, 1 ml. de cloruro de hidroxil - amonio agitar, y se dejó reposar quince minutos, y pasado éste -- tiempo se adicionó un mililitro de urea, un mililitro de la sal - disódica del ac. etilen dismino tetracético, agitar, y agregar - tres mililitros de solución de ácido acético 4N., agitar y enton - ces se empezó a adicionar la ditizona, ya sea disuelta en cloro - formo o en tetracloruro de carbono según con el disolvente con el que se estuviera trabajando. Se agrega de mililitro en mililitro y agitando en cada adición y dejando que las capas se separen y cada vez extrayendo la capa inferior de color naranja (complejo de di - tizonato de mercurio) sobre un mataz aforado de cinco mililitros - con un embudo de filtración que contenía algodón y sulfato de so - dio R.A. Así se extrajo todo el mercurio que contenía cada mues - tra se puso en ligero exceso de ditizona al término de cada ex -- tracción y si ésta no reaccionaba quedaba del mismo color y por - lo tanto ésta ya no se le adicionaba al complejo formado. Y éste - complejo fué aforado a cinco mililitros con el disolvente puro -- con el cuál se estuviera trabajando.

Una vez que se extrajo el mercurio formando el complejo y - se llevó a un volumen estandar, se procedió a leer en un espectro - fotómetro Beckam DK-2 con graficador, en la gráfica adjunta se -- pueden apreciar las lecturas obtenidas para cada muestra. En to - das ellas se encontró mercurio en mayor o menor proporción pero - lo hubo.

En la tabla lll, se da la secuencia de reactivos adicionales a cada muestra.

T A B L A lll

Muestra	Alicuota.	Sol de HCl 0.1N	Sol de NaNO_2	Sol de H_4CINO	Sol de NH_2NH_2	Sol de EDTA.	Sol de $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$	Sol de ditizona.
l	10 ml.	10 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	3 ml.	1 ml.
ll	10 ml.	10 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	3 ml.	1 ml.
lll	10 ml.	10 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	3 ml.	1 ml.
lv	25 ml.	10 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	3 ml.	2 ml.
v	20 ml.	10 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	3 ml.	3 ml.
vl	50 ml.	10 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	3 ml.	1 ml.
vll	50 ml.	10 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	3 ml.	1 ml.
vlll	50 ml.	10 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	3 ml.	2 ml.
lx	50 ml.	10 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	3 ml.	3 ml.
x	50 ml.	10 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	3 ml.	3 ml.
xl	50 ml.	10 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	3 ml.	3 ml.
xll	50 ml.	10 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	3 ml.	2 ml.
xlll	50 ml.	10 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	3 ml.	2 ml.
xlv	50 ml.	10 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	3 ml.	2 ml.
xxv	50 ml.	10 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	3 ml.	2 ml.
xvl	50 ml.	10 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	3 ml.	3 ml.

La solución de ditizona utilizada fué disuelta en tetracloruro de carbono y se leyó a la longitud de onda de 485 nm.

La extracción de mercurio con ditizona en cloroformo se hizo varias veces y si hubo formación de complejo, pero al hacer -- las lecturas en el espectrofotómetro Beckman DK-2 a la longitud de onda adecuada, no dió la misma curva ni parecida a la que presentó en la curva estandar; por lo que en cloroformo no se puede dar un resultado de las muestras en éste aparato, Probablemente -- esto se debió a que hubo alguna contaminación por lo que se desistió de hacer más extracciones con ditizona en cloroformo. Los da-

tos y resultados que se dan más adelante se obtuvieron en un es -
pectrofotómetro Perkin Elmer 139.

T A B L A IV

Muestra	Alicuota.	Sol.de HCl	Sol.de O.IN	Sol.de NaNO_2	Sol.de H_4CINO	Sol.de NH_2NH_2	Sol.de EDTA.	Sol.de $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$	Sol.de Ditizona.
1	50 ml.	10 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	3 ml.	1 ml.
11	50 ml.	10 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	3 ml.	1 ml.
111	50 ml.	10 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	3 ml.	1 ml.
1V	50 ml.	10 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	3 ml.	2 ml.
V	50 ml.	10 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	3 ml.	1 ml.
VI	50 ml.	10 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	3 ml.	1 ml.
VII	50 ml.	10 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	3 ml.	1 ml.
VIII	50 ml.	10 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	3 ml.	1 ml.
IX	50 ml.	10 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	3 ml.	1 ml.
X	50 ml.	10 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	3 ml.	2 ml.
XI	50 ml.	10 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	3 ml.	3 ml.
XII	50 ml.	10 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	3 ml.	1 ml.
XIII	50 ml.	10 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	3 ml.	2 ml.
XIV	50 ml.	10 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	3 ml.	1 ml.
XV	50 ml.	10 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	3 ml.	2 ml.
XVI	50 ml.	10 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	1 ml.	3 ml.	2 ml.

Reactivos adicionados para ditizona en cloroformo.

El cálculo para cada muestra de atún se hizo de la manera siguiente:

Como la lectura dada por el aparato en la gráfica fué transmitancia se hizo la conversión a absorbencia por medio de las tablas correspondientes.

La ecuación general utilizada para sacar la concentración correcta fué:

1) Como la curva estandar se aforó a un volumen final de 10 ml. y los problemas estuvieron aforados a cinco mililitros o sea la mitad de la curva estandar: éste volumen tuvo que tomarse en cuenta para la concentración leída para cada problema por lo que tuvo que dividirse entre dos la concentración leída para cada problema y tendremos en general:

$$\frac{C_1}{V_1} = \frac{C_2}{V_2} \quad \text{despejando } C_2 \quad C_2 = \frac{C_1 V_2}{V_1}$$

tendremos :

donde:

C_1 = Concentración del estandar

C_2 = Concentración del problema

V_1 = Volumen del estandar

V_2 = Volumen del problema

Ahora teniendo la concentración de mercurio corregida: ésa cantidad de mercurio la habrá en la alícuota tomada para la extracción

$$C_2 \times \text{alícuota de problema} = A$$

donde:

A será la cantidad de microgramos de mercurio por alícuota
 Pero la muestra original fué aforada a 500 ml. cuando se terminó la digestión por lo tanto tendremos:

A _____ Alícuota de problema

X _____ 500 ml.

queda:

$$x = \frac{A \times 500 \text{ ml.}}{\text{Alicuota de muestra}}$$

Alicuota de muestra

y X será los microgramos de mercurio en 500 ml..

El cálculo con respecto al peso de muestra original que se puso al hacer la digestión; como en todas las muestras se pusieron 50 gramos de atún se tendrá :

$$\begin{array}{r} 50\ 000\ 000 \text{ _____ } 100\% \\ X \text{ _____ } Y\% \end{array}$$

donde :

X= microgramos de mercurio en 500 ml.

Y= Porciento de mercurio en 50 gramos de muestra.

Los resultados obtenidos para cada una de las muestras se dan en las tablas V.VI,VII y VIII.

En las tablas III y IV se dan los mililitros de ditizona utilizados para la extracción de mercurio en cada muestra y los valores de absorbencia y transmitancia obtenida al hacer las lecturas en el aparato respectivo.

T A B L A V

Muestra	ml. de Ditizona	Transmitancia (T)	Absorbencia (4)
1	1 ml.	68.0	0.1675
11	1 ml.	78.0	0.1079
111	1 ml.	67.5	0.1707
1V	2 ml.	47.0	0.3279
V	3 ml.	72.5	0.1397
V1	1 ml.	73.8	0.1319
V11	1 ml.	76.0	0.1192
V111	2 ml.	54.0	0.2676
1X	3 ml.	57.0	0.2441
X	3 ml.	65.6	0.1831
X1	3 ml.	44.5	0.3516
X11	2 ml.	68.5	0.1643
X111	2 ml.	63.0	0.2007
X1V	2 ml.	77.5	0.1107
XV	2 ml.	57.0	0.2441
XV1	3 ml.	63.0	0.2007

T A B L A VI

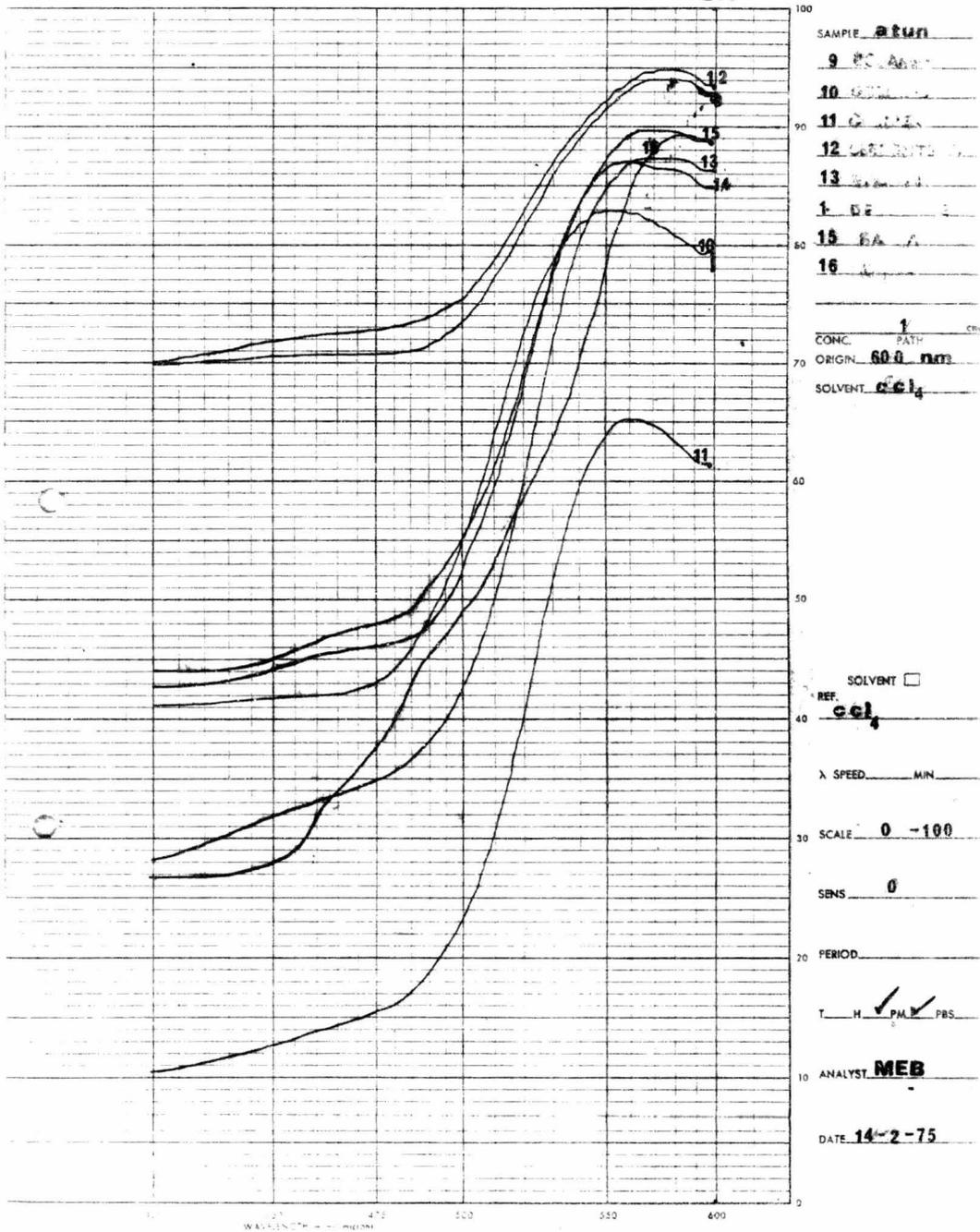
Muestra	ml. ditizona en CHCl_3	Transmitancia (T)	Absorbencia (A)
1	1 ml.	58.8	0.2300
11	1 ml.	69.1	0.1600
111	1 ml.	69.0	0.1600
1V	2 ml.	45.7	0.3400
V	1 ml.	70.8	0.1500
V1	1 ml.	67.6	0.1700
V11	1 ml.	66.0	0.1800
V111	1 ml.	64.5	0.1900
1X	1 ml.	67.6	0.1700
X	2 ml.	45.7	0.3400
X1	3 ml.	35.4	0.4500
X11	1 ml.	69.1	0.1600
X111	2 ml.	53.7	0.2700
X1V	1 ml.	74.9	0.1250
XV	2 ml.	67.6	0.1700
XV1	2 ml.	91.2	0.0400

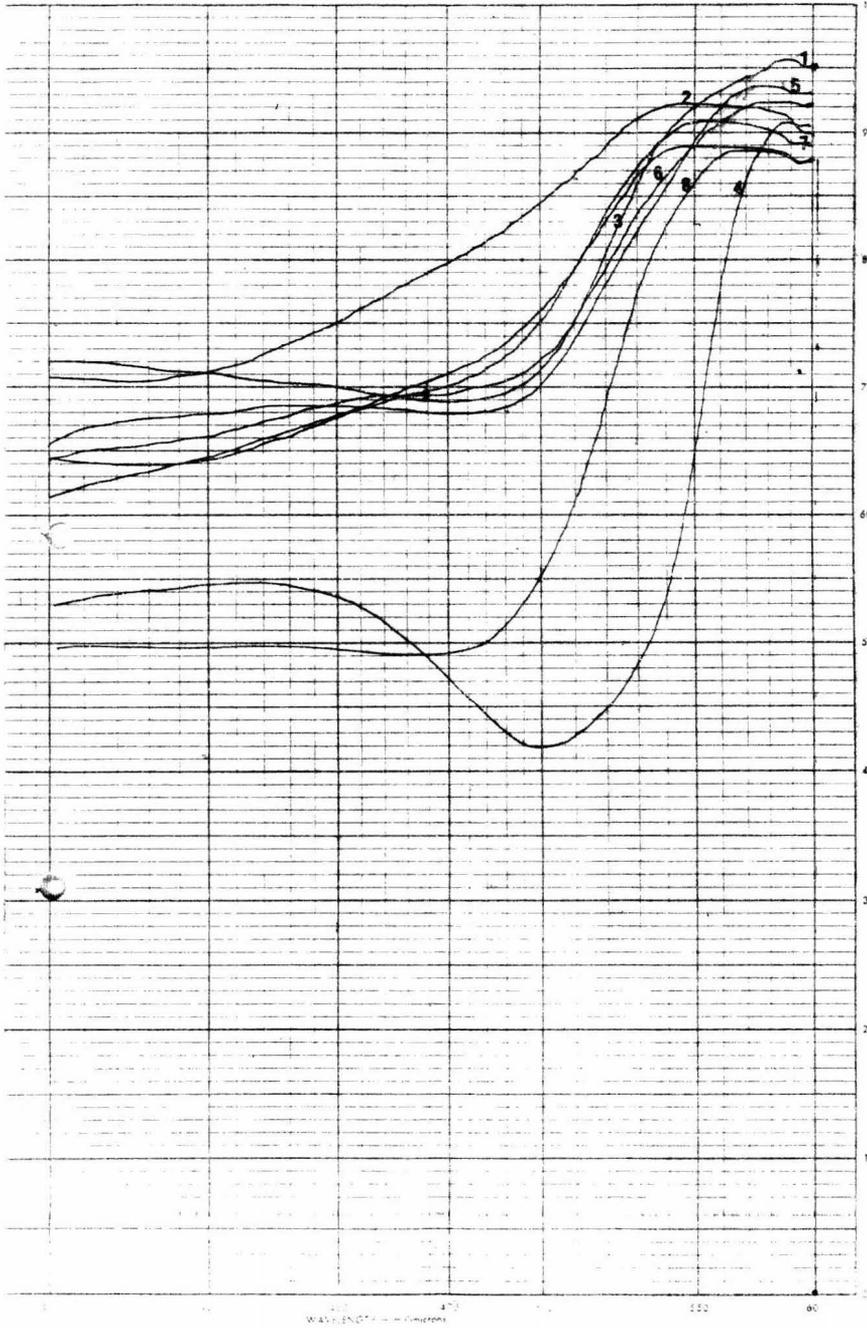
Datos obtenidos para Ditizona en Cloroformo.
(Ditizonato de mercurio)

Beckman DK-2 CHART

WHEN REORDERED, FULLERTON, CALIF., U.S.A.

104





SAMPLE atun

1

2

3

4

5

6

7

8

CONC. 1 μg/ml

PATH 1 cm

ORIGIN 600 nm

SOLVENT cc1₄

SOLVENT

REF. cc1₄

λ SPEED MIN

SCALE 0-100

SENS 0

PERIOD

T. H FM PBS

ANALYST MEB

DATE 10-2-75

T A B L A VII

Muestra	mcg/ml Hg	mcg/Alicuota	mcg/500 ml	%Hg/50g.
I	0.250	2.50	125	1.5×10^{-4}
II	0.160	1.60	80	1.6×10^{-4}
III	0.255	2.55	125	2.5×10^{-4}
IV	0.500	12.50	250	5.0×10^{-4}
V	0.200	4.00	100	2.0×10^{-4}
VI	0.195	9.75	97.5	1.9×10^{-4}
VII	0.170	8.50	85	1.7×10^{-4}
VIII	0.280	14.00	140	2.8×10^{-4}
IX	0.275	13.70	137	2.7×10^{-4}
X	0.255	12.70	127	2.5×10^{-4}
XI	0.550	27.50	275	5.5×10^{-4}
XII	0.475	23.75	237	4.7×10^{-4}
XIII	0.261	13.05	130	2.6×10^{-4}
XIV	0.160	8.00	80	1.6×10^{-4}
XV	0.275	13.75	137	2.7×10^{-4}
XVI	0.261	13.05	130	2.6×10^{-4}

Concentraciones de mercurio obtenidas en Tetracloruro de carbono.

T A B L A VIII

Muestra	mcg/ml Hg	mcg/Alicuota	mcg/500 ml	%Hg/50g.
I	0.325	16.25	162.5	3.5×10^{-4}
II	0.225	11.25	112.5	2.2×10^{-4}
III	0.225	11.25	112.5	2.2×10^{-4}
IV	0.550	27.50	275.0	5.5×10^{-4}
V	0.200	10.00	100.0	2.0×10^{-4}
VI	0.245	12.25	122.5	2.4×10^{-4}
VII	0.250	12.50	125.0	2.50×10^{-4}
VIII	0.280	14.00	140.0	2.8×10^{-4}
IX	0.245	12.25	122.5	2.4×10^{-4}
X	0.550	27.50	275.0	5.5×10^{-4}
XI	0.745	37.25	372.5	7.4×10^{-4}
XII	0.225	11.25	112.5	2.2×10^{-4}
XIII	0.405	20.25	202.5	4.0×10^{-4}
XIV	0.150	7.50	75.0	1.5×10^{-4}
XV	0.245	12.25	122.5	2.4×10^{-4}
XVI	-----	-----	-----	-----

Concentraciones de mercurio obtenidas en Cloroformo.

Como puede observarse en la Tabla VII no todas las muestras sobrepasan el límite de seguridad permitido por la Organización -- Mundial de la Salud (OMS) que es de 0.5 ppm o sea $5 \times 10^{-4}\%$. Sólo la muestra once sobrepasa éste nivel y la cuatro que se encuentra en el límite.

Para las muestras de Ditizonato de mercurio en cloroformo - se dan los datos en la Tabla VIII, estos datos fueron obtenidos en un Espectrofotómetro Perkin-Elmer UV-VIS-139 y no en el mismo Es - pectrofotómetro Beckman DK-2 debido a que en éste ultimo no dieron lectura ninguna de las muestras en cloroformo ; tal vez se debió a que hubo alguna contaminación al hacer las extracciones. La lon -- gitud de onda utilizada aquí fué de 500 nm., y como puede obser-- varse en los resultados si hubo una ligera desviación; se utilizó esa longitud de onda debido a que el aparato no era lo suficiente mente sensible a la correcta de 492. Aquí sobrepasan el límite de seguridad tres muestras la 4, la 10 y la 11 y las demás estan dentro del límite a excepción de la muestra 16 que dió una absorben-- cia muy baja la cual no se le pudo calcular la concentración de -- mercurio que contenía.

Los datos de la Tabla V, VI, VII, VIII son los resultados-- promedio de por lo menos cinco muestras para cada determinación.

El método Espectrofotómetro puede decirse que es un método  aceptable si se ve desde el punto de vista económico, si no se tie ne para hacer la determinación otro aparato más moderno y costoso;

aunque el método en sí es un poco largo debido a las extracciones que se tienen que realizar y esto puede dar un ligero error en cuanto a exactitud pero la considero bastante accesible para dar un resultado satisfactorio.

DETERMINACION DE MERCURIO CON ABSORCION ATOMICA

La determinación de residuos de mercurio por el método de Absorción atómica ;ha sido una de las técnicas más recientes desarrolladas por la Química Analítica cuantitativa, ésta ha tenido gran aceptación pues presenta muchas ventajas con respecto a los métodos ya tradicionales, la rapidez y facilidad con que se elaboran cada una de las determinaciones y la facilidad de manejo del aparato lo hacen muy accesible a éste método.

La determinación de mercurio en pescado enlatado por absorción atómica, se realizó en el Instituto de Geología en un Espectrometro de Absorción Atómica Perkin Elmer modelo 403 el cuál es hasta ahora uno de los modelos más modernos en Absorción Atómica ; éste da la lectura directamente en concentración (ppm.) o -- también en absorción; ésta es dada por un computador digital especial que muestra los dígitos iluminados.

En este caso se hizo la lectura de cada una de las muestras directamente en concentración (ppm.)

La digestión de la muestra fué la misma que la que se efectuó para la determinación Espectrofotométrica, o sea solo se hizo una sola digestión de cada muestra.

Reactivos.- Todos ellos deben de ser grado reactivo analítico y libres de metales pesados y de otras impurezas que pueden interferir en la determinación.

1.- Solución estándar de mercurio a 1000 mcg Hg/ml.

Se preparó la solución disolvente 1.080 gramos de óxido de mercurio (II) HgO, en un volumen mínimo de ácido clorhídrico (1+1) y se aforó a un litro con agua deionizada o tridestilada y quedó una concentración de 1000 mcg/ml.

2.- Solución diluida de mercurio a 50 ppm.

De la solución estándar de 1000 ppm. se tomó una alícuota y se llevó a una concentración de 50 ppm. de mercurio.

Parámetros de operación del aparato.

Longitud de onda : 2536 Å 254 nm. UV

Rendija de Paso : 4 (7 Å)

Fuente de luz : Se utilizó Lámpara de cátodo hueco de mercurio.

Se utilizó como oxidante Aire y como combustible acetileno.

Interferencias

Las interferencias que pueden presentarse en esta determinación son: con ácido ascórbico, cloruro estanoso y algunos agentes-reductores que pueden reducir al mercurio presente a Hg (I) ó a mercurio elemental y esto da alta sensibilidad, más que para mercurio (II) y su presencia puede generar resultados erróneos.

Emisión de flama: La más sensitiva longitud de onda de emisión para mercurio es a 2536 Å y usando flama de óxido nitroso-acetileno; aquí en esta determinación se utilizó aire-acetileno.

Se probó que la concentración salina de la solución del es-

tandar y de los problemas fuera igual y además se vió también que la densidad fuera aproximadamente igual.

Cuando se tuvieron todos estos parámetros bien definidos - en el aparato, se procedió a calibrarlo con la solución de cincuenta partes por millón y con agua tridestilada o sea se fijó un rango de concentración de 0 a 50 ppm. de mercurio.

Teniendo el aparato ya calibrado se procedió a hacer la de terminación del mercurio a cada una de las muestras.

Con el objeto de corroborar resultados se hizo una segunda determinación a cada muestra.

A continuación en la tabla IX se dan las lecturas obtenidas en la primera y segunda determinación; así como el promedio de las lecturas.

T A B L A IX

Muestra	Lectura 1	Lectura 11	Promedio
1	8.0	9.0	8.5
11	5.0	5.0	5.0
111	5.0	6.0	5.5
1V	2.0	5.0	3.5
V	9.0	6.0	7.5
V1	8.0	5.0	6.5
V11	4.0	4.0	4.0
V111	6.0	7.0	6.5
1X	6.0	6.0	6.0
X	4.0	8.0	6.0
X1	5.0	8.0	6.5
X11	5.0	5.0	5.0
X111	10.0	8.0	9.0
X1V	7.0	6.0	6.5
XV	6.0	6.0	6.0
XV1	4.0	6.0	5.0

Lecturas obtenidas para cada muestra.

Para el cálculo de la cantidad de mercurio real que se encuentra en cada muestra se hizo de la manera siguiente:

$$\text{ppm. Hg} = (\text{mg Hg en Sol. Muestra/gramos de muestra}).$$

Y se obtuvieron los siguientes resultados mostrados en la Tabla X.

T A B L A X

Muestra	ppm Hg/muestra	ppm Hg totales
1	4.25 mg/500 ml.	8.0×10^{-4}
11	2.50	5.0×10^{-4} %
111	2.75	5.5×10^{-4}
1V	1.75	3.5×10^{-4}
V	3.75	7.5×10^{-4}
V1	3.25	6.5×10^{-4}
V11	2.00	4.0×10^{-4}
V111	3.25	6.5×10^{-4}
1X	3.00	6.0×10^{-4}
X	3.00	6.0×10^{-4}
X1	3.25	6.5×10^{-4}
X11	2.50	5.0×10^{-4}
X111	4.50	8.4×10^{-4}
X1V	3.25	6.5×10^{-4}
XV	3.00	6.0×10^{-4}
XV1	2.50	5.0×10^{-4}

Como puede observarse los resultados obtenidos por éste método son mayores en concentración de mercurio, lo que era de esperarse puesto que éste es un método más exacto y como puede observarse la mayoría de las muestras sobrepasan el límite de seguridad permitido por la Organización Mundial de la Salud que es de 5.0×10^{-4} o sea de 0.5 ppm. de mercurio en pescado.

C A P I T U L O I V

C O N C L U S I O N E S

C O N C L U S I O N E S

- 1.- El método Espectrofotómetro d^z resultados más bajos que el método por Absorción Atómica.
- 2.- El tiempo empleado para el tratamiento oxidante de la materia orgánica y neutralización en ambas técnicas fué el mismo.
- 3.- Se encontró que la técnica por Absorción Atómica resulta más-rápida, puesto que el paso de extracción del mercurio no se efectúa. Debido al equipo empleado para el método de Absorción Atómica no fué necesario la construcción de la grafica de calibración; puesto que el equipo nos dió directamente los resultados en concentración ;Lo cuál redundaba en ahorro de tiempo.
- 4.- Los resultados por el método Espectrofotométrico son más confiables debido a que el método de ditizona es más específico-- para las muestras tratadas.
- 5.- Los datos encontrados por espectrofotometria nos indican que los niveles de mercurio en estos materiales caen dentro casi todos los límites permisibles; no así los datos obtenidos por absorción atómica en los cuales solo uno de los tipos de atún - analizados entraría dentro de especificaciones ; se nota que el método por Absorción atómica presenta una exaltación en las concentraciones detectadas. Se sugiere que las determinaciones por Absorción atómica sean llevadas por otro método que no sea el de flama, esperando que dichos métodos den datos más - precisos.

- 6.- En el Método Espectrofotométrico se estudio la extracción del ditizonato de mercurio con dos diferentes disolventes (Tetracloruro de Carbono y Cloroformo) resultando el más adecuado - el primero debido a que las extracciones en éste disolvente - son mejores además de que no se forman emulsiones que hace -- que la extracción sea más rápida.
- 7.- Si vemos las gráficas de calibración obtenidas para el diti - zonato de mercurio; es de hacer notar que la gráfica con te - tracloruro de carbono presenta mejor linealidad. Además los - datos obtenidos con extracción con cloroformo fueron menos re - producibles (ver tabla Vl11).
- 8.- Como se verá las graficas obtenidas para los productos presentan menos definición en cuanto a la zona de absorción del di - tizonato de mercurio; esto es debido a la presencia de otros - metales que son extraídos en ésta técnica ; es de hacer notar que por ejemplo el producto número 4 se ve afectado por la -- presencia de plomo. Esta contaminación en dicha muestra no es debida a la misma, sino al material de laboratorio conque fué efectuada ésta determinación específicamente. Por lo que se - recomienda en éste tipo de determinaciones el cuidado del la - vado del material con ácido nítrico y ácido sulfúrico y enjuagarlo con agua bidestilada para evitar las contaminaciones en la extracción.
- 9.- Como punto final a éste trabajo diré que es de gran importan-

tancia el que en México se adopta un sistema de control más riguroso en cuanto a éste tipo de metales pesados, como el mercurio, - ya que por la información antes dada sabemos lo perjudicial que - puede resultar a la vida en general. Ojalá el presente trabajo con tribuye a crear conciencia del grado de contaminación por mercurio que aunque no es alto ya existe en éste tipo de producto marino - que es de gran consumo por el hombre en su dieta alimenticia.

C A P I T U L O V

B I B L I O G R A F I A

B I B L I O G R A F I A

- 1) Memorias I Reunión Nacional sobre Problemas de Contaminación Ambiental. Tomo I y II. México Enero, 1973. S.S.A.
- 2) Mercury in the Enviroment. Goldwater J. Leonard. Scienti---fic American Vol. 224, 5, Mayo (1971).
- 3) Irukayama, K. Advan. Water Pollut. Res., Proc. 3rd Int Conf., Munich, Germany, September, 1966, 3:153 (1967).
- 4) Kurland, L. T., S.N. Faro, and H. Siedler. World Neurology, 1:370 (1960).
- 5) Takeuchi, T. Reprint of a paper presented at the Internatioⁿal Conference on Environmental Mercury Contamination, Ann Arbor, Michigan, September, 1970.
- 6) Andersson, A. "The Mercury Problem," Oikos Supplementum, 9:13 (1967).
- 7) Stock, A., and F. Cucuel. Naturwissenschaften, 22:390 (1943).
- 8) Goldwater, L. J. J. Royal Inst. of Public Health and Hyg., 27:279 (1964).
- 9) Sergeyeve, Ye. A. Proceeding of the First Al-Union Conferen-
ce on Geochemical Methods of Prospecting for Ore Deposits,
Krasnikov, V. I., ed. (Moscow, 1957), in Russian.
- 10) Cholak, J. Proc. Natl. Air Pollution Symp., and (Pasadena -
Calif., 1952), p. 13.
- 11) McCarthy, J. H. Minig Eng., 20:46 (1968).
- 12) Erikson, E. "The Mercury Problem," Oikos Supplementum,
9:13 (1967).
- 13) Brune, D. Anal. Chem. Acta., 44:15 (1969).
- 14) Proust, J. L. J. Phys., 49:153 (1799).
- 15) Garrigou, F. Comp. rend., 84:963 (1877).
- 16) Willm, E. Comp. rend., 88:1032 (1879).
- 17) Bardet, J. Comp. rend., 157:224 (1913).

- 18) Stock, A. *Svensk Kem. Tid.*, 50:342 (1938), *Chem. Abstr.* 33:20693.
- 19) Wiklander, L. *Grundforbattering*, 21:151 (1968), also *Geoderma*, 3:75 (1969), *Chem. Abstr.*, 71:639In.
- 20) Dall'Aglio, M. *Origin and Distribution of the Elements*, - - Ahrens, L. H., ed. (Oxford: pergamon Press, 1968), pp. 1065-1081.
- 21) Wershaw, R. L. "Sources and Behavior of Mercury in Surface Water," In *Mercury in the Environment*, *Geol. Survey Prof. Paper 713* (Washington, D. C.: U.S. Government Printing - - Office, 1970), p. 29.
- 22) Cnau, Y. K., and H. Saitoh. *Environ. Sci. Technol.*, 4: 839 (1970).
- 23) Shcherbina, V. V. *Geochem* (1956), p. 486.
- 24) Mekhomina, G. I. *Pochvovedenia*, no. 11:116, *Chem Abstr.*, - 72:110364r.
- 25) Saxby, J. D. *Rev. Pure Appl. Chem.*, 19:131 (1969).
- 26) Kraynov, S. R., G. A. Volhov, and M. Kh. Korol'kova. *Geochem. Int.*, 3:108 (1966).
- 27) Bayev. V. G. *Dokl. Akad. Nauk. SSSR*, 181:1249 (1968), *Eng. translation in Geochem.*, 211 (1968).
- 28) Ardin'yan, N. Kh. *Tr. Inst. Geol. Rudn. Mestorozhd.*, *Petrogr. Mineralog. i Geokhim.*, 9 (1962), *Chem. Abstr.*, 57:16336d.
- 29) Ardin'yan, N. Kh. *Izv. Akad. Nauk, Arm SSR.*, *Geol. i Geog. Nauki*, 16:73 (1963), *Chem. Abstr.* 58:737a.
- 30) Mason, B. *Principles of Geochemistry*, 2nd ed. (New York: John Wiley and Sons, Inc., 1966), p. 187.
- 31) Hosohara, K., H. Kozuma, K. Kawasaki, and Tsuruta. *Nippon Kagaku Zasshi*, 82:1479 (1961), *Chem. Abstr.*, 56:5766g.
- 32) Hosohara, K. *Nippon Kagaku Zasshi*, 82:1107 (1961). *Chem. Abstr.*, 56:4535d.
- 33) Saukov, A. A. *Geochemic* (Berlin, VEB-Berlag Technik, 1953).

- 34) Takeuchi, T. Department of Pathology, Kumamoto University, School of Medicine, Kumamoto, Japan, Personal Communication.
- 35) Leatherland, T. M., J. D. Burton, M. J. McCarthey, F. Culkin. *Nature*, 232:112 (1971).
- 36) Harriss, R. C. *Nature*, 219:54 (1968).
- 37) Turekian, K. K. and H. Wedepohl. *Bull. Geol. Soc. Amer.*, 72:178 (1961).
- 38) Bostrom, K. and D. E. Fisher. *Geochim Cosmochim. Acta* 33:743 (1969).
- 39) Burton, J. D. and T. M. Leatherland. *Nature*, 233:23 (1971).
- 40) D'Itri, F. M., C. S. Annett, and A. W. Fast. *Mar. Tech. Soc. J.*, 5:10 (1971).
- 41) Investigation of Mercury in the St. Clair River - Lake Erie Systems, FWQA, Great Lakes Regional Office, National Field Investigation Center, Mar, 1970. 108 pp.
- 42) Annett, C. S., M. P. Fadow, F. M. D'Itri, and M. E. Stephenson. *Mich. Acad.*, 4:325 (1972).
- 43) Kennedy, E. J., R. R. Ruch, and N. F. Shimp. *Ill. State Geol. Sur., Environ. Geol. Notes No. 44*, March, 1971. 18 pp.
- 44) Konrad, J. G. *Wis. Dept. of Nat. Res. Research Rep. No. 74* (1971), 17 pp.
- 45) Fagerstrom, T. and A. Jernelov. *Water Res.*, 5:121 (1971).
- 46) Landner, L. Report No. B76 (Stockholm: Swedish Water and -- Air Pollution Research Laboratory, August 1970). 11pp.
- 47) Jensen, S. and A. Jernelov. *Nordforsk Biocindenformation*, -- No. 10 (March, 1967), and No. 14 (February, 1968).
- 48) Jensen, S. and A. Jernelov. *Nature*, 223:753 (1969).
- 49) Wood, J. M., C. G. Rosen, and S. F. Kennedy. *Nature*, 220:173 (1968).
- 50) Dunlap, L. *Chem. and Eng. News*, 49:22 (1971).
- 51) Fujiki, M. J. *Kumamoto Med. Soc.*, 39:494 (1963), in Japanese.

- 52) Bertilsson, L. and H. Y. Neujahr. *Biochem.* 10:2805 (1971).
- 53) Imura, N., E. Sukegawa, S. K. Pan, K. Nagao, J. Y. Kim, T. Kwan, and T. Ukita. *Science*, 172:1248 (1971).
- 54) Yamaguchi, S., M. Matsumoto, M. Hoshide, S. Matsuo, and S. Kaku. *Arch. Environ. Health*, 23:196 (1971).
- 55) Landner, L. Swedish Water and Air Pollution Research Laboratory Report No. B76, August, 1970.
- 56) Werner, J. In *Chemical Fallout*, Miller, M. W., and G. G. - Berg, eds. (Springfield, Ill.: Charles C. Thomas Publ., -- 1969), Chapter 4, pp. 68-74.
- 57) Hutichinson, G. E. A. *Treatise on Limnology*, Vol. 1 (New - York: John Wiley and Sons, 1957), Chapter 11, pp. 691-726.
- 58) Bouveng, H. *Modern Kemi*, No. 3:45 (1968), in Swedish.
- 59) Larson, J. E. Swedish Environmental Protection Board, Stockholm, 44 pp. (1970).
- 60) Magos, L., A. H. Tuffery, and T. W. Clarkson. *Brit. J. Ind. Med.*, 21:294 (1964).
- 61) Furukawa, K., T. Suzuki, and K. Tonomura. *Agr. Biol. Chem.* (Tokyo), 33:128 (1969), in English.
- 62) Yamada, M., M. Dazai, and K. Tonomura, *Hakko Kogaku - - - Zasshi*, 47:155 (1969). In Japanese, *Chem. Abstr.*, 70:90584r.
- 63) Suzuki, T., F. Furukawa, and K. Tonomura. *Rep. Ferment Res. Inst.* 36:1 (1969), *Biol. Abstr.*, 51:103357.
- 64) Suzuki, T., K. Furukawa, and K. Tonomura. *Hakko Kogaku - - Zasshi*, 46:1048 (1958), in English, *Chem. Abstr.* 70:50290k.
- 65) Tonomura, K., K. Maeda, F. Futai, T. Nakagami, and M. Yamada. *Nature*, 217:644 (1968).
- 66) Matsumura, F., Y. Gotoh, G. M. Bousch. *Science*, 173 (1971).
- 67) Tonomura, K., and F. Kanzaki. *Biochem. Biophys. Acta*, 184: 227 (1969).
- 68) Tonomura, K., M. Maeda, F. Futai, T. Nakagami, and M. Yamada. *Nature*, 217,644 (1968).

- 69) Tonomura, K., T. Nakagami, F. Futai, K. Maeda, and O. Tanabe. Rep. Ferment. Tes. Inst., 32:25 (1967), in Japanese --- with English summary, Biol. Abstr., 51:97053.
- 70) Tonomura, K., K. Maeda, and F. Futai. J. Ferment. Technol., 46:685 (1968).
- 71) Tonomura, K. Biochem. Biophys. Acta, 182:227 (1969).
- 72) Tonomura, K., K. Maeda, and F. Futai. Hakko Kogaku Zasshi, 46:685 (1968), in English, Chem. Abstr., 70:9485q.
- 73) Harris, J. O., A. Eisenstark, and R. D. Dragsdorf. J. Bacterior., 68:745 (1954).
- 74) Corner, E. D. S. and F. H. Rigler. J. Mar. Biol. Ass. 36: 449 (1957).
- 75) Johnels, A., T. Westermark, W. Berg, P. I. Persson, and B. Sjostrand. Oikos, 18:323 (1967).
- 76) Hannerz, L. Report No. 48, Fisheries Board of Sweden, Institute of Freshwater Research, Drottningholm, (1968). p.120.
- 77) Hasselrot, T. B. Report No. 48, Fisheries Board of Sweden, Institute of Freshwater Research, Drottningholm, (1968), - p. 102.
- 78) Miettinen, V., E. Blankenstein, K. Rissanen, M. Tillander, J. K. Miettinen, and M. Valtonen. "FAO Technical Conference on Marine Pollution and Its Effects on Living Resources and Fishing," Rome, Italy, December 9-18 (1970).
- 79) Hughes, W. L. Ann. N. Y. Acad. Sci. 65:454 (1951).
- 80) Westoo, G. Acta Chem. Scand., 20:2131 (1966).
- 81) Noren, K. and G. Westoo. Var Foeda, 19:13 (1967).
- 82) Jernelov, A. Limn. and Oceanography, 15:958 (1970).
- 83) Chapman, W. M., H. L. Fisher, and M. W. Pratt. UCRL 50564 Lawrence Radiation Laboratory, University of California, Livermore, Calif. (1968), 50 pp.
- 84) Underdal, B. and T. Hastein. Oikos, 22:101 (1971).
- 85) Rucker, R. R. and D. F. Amend. Prog. Fisch Cult., 31:197 (1969), Biol. Abstr., 51:29800.

- 86) Hamilton, A. In the paper by E. G. Bligh in Mercury in Man's Environment (Ottawa, Ontario: Royal Society of Canada, 1971), p. 87.
- 87) Wobeser, G., N. O. Nielsen, and R.H. Dunlop. J. Fish. Res. Bd. of Can., 27:830 (1970).
- 88) Bails, J. D. Fish Division, Michigan Dept. of Natural Resources, Lansing, Michigan, Unpublished data, 1970.
- 89) Berg, W., A. G. Johnels, B. Sjostrand, and T. Westermark. Oikos, 17:71 (1966).
- 90) Evans, R. J., J. D. Bails, and F. M. D'Itri. Environ. Sci. Tech., 6:901 (1972).
- 91) MacNamara, E. E. State of New Jersey, Dept. of Conservation and Economic Development, Trenton, New Jersey, October, 1966.
- 92) Wurtz, C.B., and C. E. Renn. John Hopkins University Cooling Water Studies for Edison Electric Institute, RP-49, June, - 1965.
- 93) Johnels, A. G., P. I. Persson, T. Westermark, B. Sjostrand, and W. Berg. Oikos (Supplement), 9:39 (1967).
- 94) Swedish National Institute of Public Health. Methyl Mercury in Fish - A Toxicological-Epidemiologic Evaluation of Risks (Stockholm, Sweden: Nordisk Hygienisk Tidskrift, 1971), -- Supplement 4, 289 pp.
- 95) U.S. Department of the Interior, Mercury in the Environment, Geological Survey Professional Paper 713 (Washington, D. C., 1970), 67 pp.
- 96) Doudoroff, P., and M. Katz. Sewage and Industrial Wastes, - 25:802 (1953).
- 97) Ellis, M.N. Detection and Measurement of Stream Pollution, - Bulletin No. 22, U. S. Department of Commerce, Bureau of -- Fisheries, 1937.
- 98) Nelson, N. Environ. Res., 4:1 (1971).
- 99) Wallace, R. A., W. Fulkerson, W. D. Shults, and S. W. Lyon. Mercury in the Environment - The Human Element. (Oak Ridge, Tennessee: Oak Ridge National Laboratory, (1971), ORNL-NSF-EP-1, 61 pp.

- 100) McKee, J. E. and H. W. Wold. Water Quality Criteria. 2nd. - ed. (The Resources Agency of California, State Water Quality Control Board, 1963), pp. 216-219.
- 101) Carpenter, K. E. Ann. Appl. Biol., 12:1 (1925).
- 102) Lloyd, R. Ann. Appl. Biol., 48:84 (1960)
- 103) Neyer, D. F. Federation Proc., 11:107 (1962)
- 104) Backstrom, J. Acta Pharmacol. Toxicol., 27:1 (1969).
- 105) Carpenter, K. E. J. Exp. Biol., 4:378 (1927).
- 106) Boetius, J. Meddelser fra Danmarks Fiskeri-og Havundersogelser, 3:93 (1960), Biol. Abstr., 37:16971.
- 107) Hibya, T., and M. Oguri. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 27:996 (1961).
- 108) Ohmono, Y., V. Miettinen. Unpublished report on Studies on the Distribution of ²⁰³Hg-Labelled Methyl Mercury and --- Phenyl Mercury in Pike, Department of Radiochemistry, University of Helsinki, Finland. Presented at the Fifth RIS-Symposium, Helsinki, May 19-20, 1969. 18 pp.
- 109) Jarvenpaa, T., M. Tillander, and J. K. Miettinen. Suomen Kemi. B43:439 (1970).
- 110) Unlu, M., J. K. Miettinen, and S. Keches. FAO Technical -- Conference on Marine Pollution and Its Effect on Living -- Resources and Fishing, Rome, December 9-18, 1970.
- 111) Miettinen, J. K., M. Tillander, K. Rissanen, V. Miettinen, and Y. Ohmono. Paper presented at Northern Mercury Symposium of Nordforsk, Stockholm, October 10-11, 1968; also -- Miettinen, J. K., M. Tillander, K. Rissanen, V. Miettinen, and Y. Ohmono. Proc. 9th Conference on Radioisotopes (Tokyo: Atomic Energy Society, Japan, 1969), pp. 474-478.
- 112) Miettinen, J. K., M. Heyraud, and S. Keches. FAO Technical Conference on Marine Pollution and its Effects on Living - Resources and Fishing, Rome, December 9-18 1970, 15 pp.
- 113) Tillander, M., and J.K. Miettinen. FAO Technical Conference on Marine Pollution and its Effects on Living Resources and Fishing, Rome, December 9-18, 1970, 9 pp.
- 114) Jones, J.R.E. J. Exp. Biol., 16:425 (1939).

- 115) Weir, P. A., and C. H. Hine. Arch. Envir. Health, 20:45 - - (1970).
- 116) Uspenskaya, V. I. Gig. Sanit., 11:1 (1946).
- 117) Belding, D. L. Trans. Amer. Fisheries Soc., 57:10 (1927).
- 118) Rushton, W. Salmon and Trout Mag. 23:43 (1920).
- 119) Van Horn, W. M., and M. Katz. Science, 104:557 (1946).
- 120) Rucker, R. R. Prog. Fish. Cult., 10:19 (1948).
- 121) Burrows, R. D. and D. D. Palmer. Prog. Fish. Cult. 11_147 (1949).
- 122) Sniesko, S. F. Prog. Fish. Cult., 11:153 (1949).
- 123) Rucker, R. R. and W. J. Whipple. Prog. Fish. Cult., 13:43 (1951).
- 124) Rogers, E. D., B. H. Hazen, S. B. Friddle, and S. F. Snieszko. Prog. Fish. Cult., 13:71 (1951).
- 125) Dequaine, J. F. Prog. Fish. Cult., 13:103 (1951).
- 126) Foster, R. F., and P. A. Olson. Prog. Fish. Cult., 13:129 (1951).
- 127) Allison, R. Prog. Fish. Cult., 19:58 (1957).
- 128) Allison, R. Prog. Fish. Cult., 19:108 (1957).
- 129) Clemens, H. P. and K. E. Sneed. Prog. Fish Cult., 20:8 (1958).
- 130) Clemens, H. P. and K. E. Sneed. Prog. Fish Cult., 20: 147 -- (1958).
- 131) Hammer, G. L. Prog. Fish Cult., 22:14 (1960).
- 132) Willford, W. A. In. Investigations in Fish Control, Bureau - of Sport Fisheries and Wildlife, Fish and Wildlife Service - Washington, D. C., Government Printing Office, April, (1967).
- 133) Clemmens, H. P. and K. E. Sneed. Special Scientific Report - -Fisheries NO. 316, Fish and Wildlife Service Washington, -- D. C.: Government Printing Office, 1959), 10 pp.

- 134) Hamamoto, Y. Nippon Nogei Kagaku Kaish, 34:994 (1960).
- 135) Hamamoto, Y. Nippon Nogei Kagaku Kaish, 34:997 (1960).
- 136) Akiyama, A. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 36:563 (1970).
- 137) Van Horn, W.M. and R. Balch. Tappi, 38:151 (1955).
- 138) Amend, D.F., W.T. Yasutake, and R. Morgan. Trans. Amer. Fish. Soc., 98:419 (1969).
- 139) Cafruny, E.J. and R.Z. Gussin. J. Pharmacol. Exp. Therap., 155:111 (1967).
- 140) Jackim, E., J.M. Hamlin, and S.Sonis. J. Fish. Res. Bd. Can. 27:383 (1970).
- 141) Dolar, S.G., D. R. Keeney, and G. Chesters. Environ. Lett., 1:191 (1971).
- 142) den Dooren de Jong, L.E. Antonie van Leeuwenhoek, 31:301 (1965).
- 143) Harris, R.C., D. B. White, and R. B. Macfarlane. Science, 170:736 (1970)
- 144) Anderson, B. G. Trans. Am. Fish. Soc., 78:96 (1948).
- 145) Bringmann, G. and R. Kuhn. Gesundheits-Ing., 80:115 (1959).
- 146) Nolan, M.O., H. W. Bond, and E. R. Mann. J. Trop. Med. and Hyg., 2:716 (1953).
- 147) Bond, H. W. and M. O. Nolan. Am. J. Trop. Med. and Hyg. 3:187 (1954).
- 148) McMullen, D. B. Am. J. Trop. Med. and Hyg. 1:671 (1952).
- 149) Jones, J. R. E. J. Exp. Biol., 17:408 (1940).
- 150) Hendrick, R. D. and T. R. Everett. J. Econ. Entom. 58:958 (1965).

- 151) Getsova, A.B. and G. A. Volkova. Proc. Fed. Amer. Soc. Exptl. Biol., 24:683 (1964).
- 152) Warnick, S.L. and H. L. Bell. J. Wat. Poll. Control Fed., 41:280 (1969).
- 153) Benet, L. and P. Nicolle. Compt. Rend. Soc. Biol., 134:563 (1940).
- 154) Jones, J. R. E. J. Exp. Biol., 17:325 (1940).
- 155) Doudoroff, P. In The Physiology of Fishes, Volume II, Behavior, Brown, M. E., ed. (New York: Academic Press, (1957), pp. 403-430.
- 156) Clendenning, K. A., and W. J. North. In Proc. Ist Int. Conf. on Waste Disposal in the Marine Environment (New York: Pergamon Press, 1960), p. 82.
- 157) North, W. J. and K. A. Clendenning. Ann. Prog. Rep. Inst. Marine Resources, Univ. Calif. LaJolla IMR Ref. 58-11 (1958).
- 158) Wherles, R. Appl. Microbiol. 10:532 (1962).
- 159) Glooschenko, W.A. J. Phycol., 5:224 (1969).
- 160) Krauskopf, K. B. Geochim. Cosmochim. Acta, 9:1 (1956).
- 161) Vinogradov, A. P. The Elementary Chemical Composition of Marine Organisms (New Haven, Conn.: Sears Foundation 325 pp.
- 162) Boney, A.D., E. D. S. Corner, and B. W. Sparrow. (Bonnem) Schm. Biochem. Pharm., 2:37 (1959).
- 163) Boney, A.D. and E. D. S. Corner. J. Mar. Biol. Ass. U. K., 38:267 (1959).

- 164) Hoffmann, C. Kiel. Meeresforsch., 7:38 (1950).
- 165) Smart N. A., Hill A. R. C., Determination of Hg. Residues in Potatoes, Grain and Animal Tissues Using Perchloric Acid Digestion. Analyst 94:143-147 Feb. (1969).
- 166) Report by The Joint Mercury Residues Panel of The Advisory Committee on Poisonous Substances used in agriculture and-food storage The Analytical Methods Committee and The association of British Manufactures of agricultural Chemicals, Analyst, 86:608 (1961).
- 167) Analytical Methods Committee. The Determination of Small Amounts of Mercury in Organic Matter . Analyst 90, Sept. - 1074, (1965).