



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA



**"DESARROLLO DE UNA TÉCNICA ESPECTROSCÓPICA PARA ANÁLISIS
DE PARTES POR BILLON ppb DE MERCURIO EN AGUA USANDO
GENERACIÓN DE VAPOR FRÍO"**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO

PRESENTA

MONSERRAT YARET MORALES RODRÍGUEZ

DIRECTOR DE TESIS

DRA. JUANA ROSADO PÉREZ

CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX

2016



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.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por llenar mi vida de bendiciones, por darme la dicha de terminar esta meta tan importante en mi vida y por darme la fortaleza para seguir adelante aun así con las dificultades que se han ido presentando en mi vida, y por enviarme a las personas que están en mi camino y que me han dado lo mejor de ellas.

A mis padres que aunque ya no están conmigo físicamente sé que se encuentran cerca de mí, y que estarían orgullosos de este logro, gracias por haber llenado mi vida de amor y formar parte de mí.

A mi Mami Rosa por haberme enseñado los valores y principios, por formar la mujer que ahora soy, por su dedicación, por su tiempo, por sus consejos tan sabios y por su gran amor de madre.

A mi amor Iván por estar conmigo siempre en las buenas y en las malas, porque siempre me has dado ánimo, por todo el camino que hemos recorrido juntos y por lo que hemos logrado, y por lo que tratamos de alcanzar que aunque parezca difícil lo hacemos posible los dos y seguimos luchando por nuestros sueños.

A mi hermanito Yahir por estar siempre conmigo y darme lo mejor de ti, que a pesar de las grandes dificultades en la vida siempre estás dispuesto a ayudarme y darme tu consejo y aliento por enseñarme siempre a ser valiente como tú, por tu gran fortaleza y tu amor.

A mis tías Carmen Rosa y Guadalupe por darme su apoyo y disposición para poder lograr esto, por su gran ejemplo como mujeres, por todo lo que me han enseñado y por siempre estar con mi hermano y conmigo.

A mis tíos Jorge y Víctor por ser unos hombres ejemplares para mí por formar parte de mi vida y por su cariño.

A la familia Rosado Pérez por todo su apoyo y en especial a la señora Amanda por tratarme como a una hija más por darme consejos y ánimos para terminar con esta etapa de mi vida y por formar algo tan especial para mí.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por formar parte de mi formación.
A la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza por ser mi segunda casa por

darme todas las herramientas necesarias para formarme como profesionista y salir al mundo para seguir aprendiendo y compartir mis conocimientos.

A la Doctora Juanita por todo su tiempo y dedicación de este trabajo por darme la oportunidad de trabajar juntas, por darme sus enseñanzas y consejos, y por formar parte de mi formación académica.

Al Sistema de Aguas de la Ciudad de México por el apoyo para poder realizar este trabajo tan importante para mí.

A todas las personas que formaron parte de este trabajo y que sin ellos no se hubiera podido lograr.

ÍNDICE

1. Resumen	5
2. Introducción	7
3. Marco Teórico	9
3.1 Mercurio	9
3.2 Propiedades Físicas y Químicas	10
3.3 Contaminación	12
3.4 Compuestos Inorgánicos del Mercurio	15
3.5 El Ciclo del Mercurio	15
3.6 Ciclo Global	17
3.7 Ciclo Local	18
3.8 Ciclo de Biotransformación	18
3.9 Toxicología del Mercurio	19
3.10 Métodos de Determinación de Mercurio	20
3.11 Determinación por Espectroscopia Atómica, Generación de Vapor Frio	24
3.12 Espectroscopia de Absorción Atómica (EAA) Acoplado a un Sistema de Análisis por Inyección de Flujo (FIAS)	35
4. Planteamiento del Problema	41
5. Hipótesis	42
6. Objetivos	43
6.1 Objetivo General	43
6.2 Objetivos Específicos	43
7. Metodología	44
7.1 <i>Optimización de las Condiciones del Sistema de Análisis por Inyección de Flujo (FIAS).</i>	44
7.2 Plan de Validación	48
7.3 Preparación de Disoluciones y Curvas de Calibración	48
7.4 Condiciones de Operación del Instrumento	50
7.5 Lectura en el Equipo	51
7.6 Cálculo Periódico del Límite de Detección del Método	52
8. Resultados	52
8.1 Optimización	52
8.2 Resultados de la Validación del Método	60
9. Discusión	66
9.1 Optimización del Equipo	66
9.2 Validación del Método	70
10. Conclusiones	72
11. Referencias	74
Anexo	78

1. RESUMEN

La determinación de mercurio en agua es de importancia ya que además de ser el más tóxico de los metales, se desconoce si es esencial para algún proceso metabólico, además de que se acumula en la mayoría de los seres vivos.

Este metal llega a los diferentes cuerpos de agua a través de la descarga de diversos efluentes, entre los principales se encuentran los de minas, fábricas de procesamiento de metales, industrias químicas y refinerías.

La protección al agua en lo que se refiere a calidad y cantidad es prioritaria y es por ello que para el bienestar de la población las aguas subterráneas, superficiales, de manantiales, etc., que sirven para cubrir las necesidades de agua potable deben ser protegidas de la mejor forma posible de impurezas y deterioro en su calidad. En este sentido, la determinación del mercurio es muy importante, por lo cual se ha planteó el desarrollo de una técnica espectroscópica por generación de vapor frío considerando las características físico químicas de este elemento.

OBJETIVO: Desarrollar una técnica analítica para la determinación de mercurio, optimizando las condiciones de operación de un Espectrofotómetro de Absorción Atómica para la técnica de generación de vapor frío para llegar a determinar concentraciones bajas de partes por billón ppb en agua potable.

METODO: se realizó la optimización de las condiciones de operación del sistema FIAS, variando parámetros como el pH, el flujo de las soluciones acarreadora (solución del HCl) y reductora ($NaBH_4$), el flujo del gas de arrastre (Argón), el efecto de las condiciones Redox (a través del uso del permanganato de potasio) y el efecto de los tiempos de reacción (pre llenado, llenado e inyección). Posteriormente se desarrolló la técnica para la determinación del mercurio y se validó, se determinó la linealidad, exactitud, precisión y sesgo del método, así como los límites de cuantificación.

RESULTADOS: Tras varias pruebas, se logró la optimización del Sistema de Análisis por Inyección de Flujo (FIAS), bajo las siguientes condiciones: Concentración de HCl 3% y $NaBH_4$ 0.2%. Flujo de 10 mL/min para la solución acarreadora (HCl) y 5 mL/min para el $NaBH_4$. Flujo del Gas de Arrastre (Argón),

de 30 mL/ min. Así mismo se encontró una mejor Absorbancia en la curva de calibración con el uso del permanganato de potasio. Respecto a los tiempos de Reacción (Pre llenado, Llenado e Inyección), los mejores tiempos fueron 20 s para Pre llenado, 15 s para Llenado, y 15 s para inyección. De la validación del método se encontraron los siguientes resultados: 0.07 de absorbancia para un estándar de 10 ppb. Linealidad en las curvas de calibración (r mayores de 0.995).

Para el límite de cuantificación del método la veracidad fue menor al 105%, la desviación estándar relativa (DER) menor al 5%.

Para la exactitud y precisión del método los recobros fueron menores del 105% y mayores del 95% y el % DER menor del 5%.

La veracidad fue menor al 105% de recobro y el sesgo obtenido fue menor al 3%.

CONCLUSIONES: dado que los resultados cumplen con los parámetros de sensibilidad dados por las especificaciones del equipo y con los parámetros establecidos en la NMX-AA-051-SCFI-2001, Análisis de Agua–Determinación de Metales por Absorción Atómica en Aguas Naturales, Potables, Residuales y Residuales Tratadas, se puede concluir que se logró el desarrollo de una Técnica Espectroscópica con Generación de Vapor Frío para la determinación de partes por billón ppb de mercurio en agua potable en un Espectrofotómetro de Absorción Atómica (EAA) acoplado a un Sistema de Análisis por Inyección de Flujo (FIAS) adecuada y confiable, y que se puede utilizar para la determinación de mercurio en agua.

2. INTRODUCCIÓN

Todos los metales pueden ser tóxicos para los seres vivos si los niveles de exposición son suficientemente altos, son especialmente importantes debido a su característica de acumulación en los organismos.

Los metales, en forma de diferentes sales, llegan a los cuerpos de agua a través de la descarga de diversos efluentes. Entre las descargas principales se encuentran los de minas, fábricas de procesamiento de metales, industrias químicas y refinerías.

Muchos tipos de aguas de desechos industriales contienen metales pesados en disolución. A menudo, estas aguas industriales son descargadas en el sistema de alcantarillado municipal.

Los metales pesados ejercen un efecto adverso sobre la generalidad de los procesos biológicos.

El problema de la contaminación del agua en México es muy palpable ya que es un país que presenta diferentes características geográficas y climatológicas, lo que ha ocasionado que sus recursos naturales estén concentrados en áreas definidas; esto aunado al crecimiento económico y social hace que se graven y multipliquen los problemas derivados de la contaminación del agua, que junto con la escasez y el desperdicio tienen como consecuencias diversos problemas de abastecimiento, por lo cual los mantos freáticos son sometidos a una sobre explotación, principalmente en la época de estiaje, por el otro lado la falta de apoyo económico para aumentar y administrar los recursos hídricos hacen de esta situación un problema crítico.

La protección al agua en lo que se refiere a calidad y cantidad es prioritaria y es por ello que para el bienestar de la población, las aguas subterráneas, superficiales, de manantiales, etc., que sirven para cubrir las necesidades de agua potable deben ser protegidas de la mejor forma posible de impurezas y deterioro en su calidad.

Entre los metales más importantes por como afectan a la salud es el mercurio y sus compuestos ya que son sumamente tóxicos, especialmente para el sistema nervioso en desarrollo. El nivel de toxicidad en seres humanos y otros organismos varía según la forma química, la cantidad, la vía de exposición y la vulnerabilidad de la persona expuesta.

La detección y cuantificación de mercurio en agua (potable y residual) se hace mediante técnicas de espectroscopia de absorción atómica, sin embargo en la práctica en el laboratorio se presentan diferentes problemas ya que el mercurio se comporta de manera diferente a los otros metales y no se logra alcanzar los límites de detección y la sensibilidad por las técnicas convencionales de Absorción Atómica.

De ahí la importancia del presente trabajo, donde se plantea el desarrollo de una técnica espectroscópica por generación de vapor frío.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 Mercurio

El mercurio es el único metal que tiene la propiedad de permanecer en estado líquido a temperatura ambiente. Es poco frecuente que se encuentre en la litósfera, en la que constituye tan solo el 10^{-4} %.^[1]

Tiene color blanco plateado, muy brillante, pero en capas delgadas es casi transparente, de color azul violáceo.

El mercurio junto con el zinc y el cadmio forman parte del grupo II B de el cuadro periódica de los elementos químicos (elementos de transición), tienen un comportamiento tan diferente que no puede considerarse como análogo aunque pertenezca a su mismo grupo.^[1]

A pesar de que el mercurio es uno de los metales pesados, es notablemente volátil, produciendo un vapor monoatómico con una considerable presión de vapor. Igualmente sorprende de su solubilidad tanto en líquidos polares como en no polares: su solubilidad en agua libre de aire a 25°C es de 6.39×10^{-7} g/L.^[1]

A pesar de su elevado punto de ebullición, el mercurio se volatiliza en parte a temperatura ambiente, por eso mismo en consideración a la toxicidad de sus vapores debe ser manejado con cuidado.^[1]

El cinabrio es el único mineral importante de donde se puede obtener mercurio, estando constituido por cadenas helicoidales de unidades S-Hg-S, el cual se tuesta hasta llegar al óxido; este se descompone a una temperatura de 500°C y el mercurio se evapora.^[2] (Cuadro 3.2)

3.2 Propiedades Físicas y Químicas

En el cuadro 3.2 se presentan las propiedades Físicoquímicas del Mercurio:

CUADRO 3.1 Propiedades Físicoquímicas del Mercurio.

Propiedad	Característica
Color	Blanco plateado, el mercurio sólido es blanco- estaño.
Forma	Pesado móvil, metal líquido a temperatura ambiente
Olor	Sin olor
Punto de ebullición	356.72°C
Punto de fusión	-38.87°C
Peso molecular	200.59 g/mol
Densidad	16.6 g/mL
Solubilidades	<ul style="list-style-type: none"> ❖ 6.39×10^{-7} g/L en agua a 25°C; ❖ Soluble en Ácido Nítrico; insoluble en Ácido Clorhídrico diluido, Bromuro de Hidrógeno, Ioduro de Hidrógeno, Ácido Sulfúrico frío. ❖ Se disuelve en alguna medida en lípidos; 2.7 mg/L en pentano.
Viscosidad	❖ 1.55 mPa. s (15.5 milipoise) a 20°C
Corrosividad	❖ La alta movilidad y tendencia a la dispersión del Mercurio y a la facilidad con la que forma aleaciones (amalgamas) con

	<p>muchos metales del laboratorio y eléctricos, puede ocasionar problemas serios de corrosión en los laboratorios.</p> <p>❖ Precaución especial: el Mercurio puede atacar al Cobre y materiales con aleaciones de Cobre.</p>
--	--

A temperatura ambiente	❖ se encuentra puro y no se oxida, sin embargo, al calentar cerca de su punto de ebullición, lentamente forma HgO.
Forma aleaciones	❖ con los metales, excepto con el hierro (solo a temperaturas muy altas) y con Azufre se combina a temperatura ambiente.
Número atómico	❖ 80
Número de valencia	❖ 1,2
Grupo de el cuadro periódica	❖ IIB
Isotopos naturales	❖ 202 (29.80%), 200 (23.13%), 199 (16.84%), 201 (13.22%), 198 (10.02%), 204 (6.85%) y 196 (0.146%).
Resistividad eléctrica	❖ 95.76 microohm cm a 20°C
Forma compuestos	❖ Con radicales orgánicos,

	normalmente formando enlaces covalentes con átomos de carbono.
En la atmosfera saturada a 25°C	❖ contiene aproximadamente 18mg /m ³ , donde el vapor de mercurio existe en un estado monoatómico.

3.3 Contaminación

3.3.1 Fuentes Naturales

Las fuentes naturales principales del mercurio son las rocas y los suelos. La evaporación del mercurio metal desde la tierra y el mar, así como la erosión, la disolución de los minerales de las rocas (debido a la penetración del agua a través de estas por tiempo prolongado) y las emisiones volcánicas, producen una distribución natural de este elemento hacia los diferentes medios aéreo, terrestre y acuático. En cada uno de estos ambientes el mercurio interacciona con los seres vivos entrando a formar parte de la biosfera. A su vez entre los diversos medios se establece un equilibrio entre pérdidas y ganancias que sirve para establecer el balance del mercurio en la naturaleza. ^[1, 2]

3.3.2 Fuentes Antropogénicas

Las principales fuentes antropogénicas del mercurio son la minería, la agricultura y el uso industrial. El mercurio, puede entrar en ciclo atmosférico, por los vertidos industriales atmosféricos o por la combustión de carbones, desde donde se introduce en las cadenas tróficas por el ciclo de agua, o bien se inhala directamente. ^[2]

También entra directamente en el ciclo del agua, mediante el vertido de residuos a las aguas de los ríos y mares, y a través de vertidos industriales o domésticos (alcantarillado). Por último, debido al uso agrícola del mercurio, está presente como contaminante de suelo, desde donde se incorpora a las cadenas tróficas. ^[1,2]

Del total de la producción, aproximadamente 1/3 se emplea en forma metálica, el resto en forma de derivados. Existen alrededor de 3000 aplicaciones diferentes del mercurio y sus diferentes derivados, con más de 66 ocupaciones distintas con riesgo de exposición al mismo. ^[1,2]

Las clínicas dentales pueden ser una fuente de emisión por el uso de mercurio en amalgamas dentales. El uso de mercurio por parte de los odontólogos se estima entre 1.2 – 1.5 kg / año (por cada odontólogo). La amalgama convencional de plata normalmente contiene, en porcentajes de peso, 50% Hg, 35 % Ag, y 15% de Sn, Cu,Zn. ^[1,2]

La incineración de residuos urbanos libera entre 0.4 y 3.5 g de Hg / Ton residuo, esto corresponde a una concentración promedio de Hg 3 – 4 $\mu\text{g/g}$. Dado que las pilas son la fuente principal de mercurio en los residuos sólidos urbanos, el contenido en mercurio puede reducirse a menos de 1 $\mu\text{g/g}$ si son retiradas las pilas. ^[1, 2]

La minería y fundición de Zn y Pb representan la fuente industrial dominante de Hg en Oceanía, mientras que la combustión de la madera es una fuente importante de Hg atmosférico en los países en desarrollo de África, América Central y del Sur. La combustión del petróleo contribuye con una fracción significativa (4 – 16 %) del Hg emitido en cada región. ^[3]

La industria se considera actualmente como principal fuente de contaminación es la industria cloro – alcalina (electrodos de mercurio), seguida de la industria

papelera, en la que se utilizan compuestos mercuriales como fungicidas de la pasta de papel. Las pinturas anti- incrustantes que se fabrican con mercurio para los cascos de los barcos, al estar sometidas a la acción de los cloruros del agua del mar, se convierten en tóxicos para los moluscos.^[4] (Cuadro 3.3.2)

CUADRO 3.2 Fuentes y usos del Mercurio con respecto a su forma química

FORMA QUIMICA	FUENTE DE USO
Mercurio Elemental	<ul style="list-style-type: none"> • Industria cloro – alcalina • Amalgamas dentales • Minería del oro • Equipos eléctricos (baterías, interruptores)
Mercurio Inorgánico Hg^{2+}	<ul style="list-style-type: none"> • Equipos eléctricos (baterías) • Productos para el cuidado de la piel • Productos médicos • Impregnación de la madera
Mercurio Inorgánico Hg^{2+}	<ul style="list-style-type: none"> • Equipos eléctricos • Productos médicos
Mercurio Orgánico	<ul style="list-style-type: none"> • Fungicidas • Pesticidas • Pigmentos (pinturas) • Productos médicos

Fuentes y usos del mercurio con respecto a su forma química (Jasinski 1995).

3.4 Compuestos Inorgánicos del Mercurio

El mercurio metálico se disuelve fácilmente en ácido nítrico, y agua regia, en menor grado y solamente a temperaturas elevadas en ácido sulfúrico y ácido clorhídrico, formando sales de mercurio. El mercurio, además de mercurio Hg^0 , puede existir en forma de iones Hg^{1+} y Hg^{2+} . [5]

Los compuestos inorgánicos de mercurio pueden ser clasificados en los siguientes grupos: (Cuadro 3.4)

CUADRO 3.3 Compuestos Orgánicos del Mercurio.

Sulfuros	HgS
Óxidos	HgO
Compuestos con halógenos	$Hg_2Cl_2, HgCl_2, HgF_2, HgBr_2, etc.$
Cianuros y tiocianatos	$Hg(SCN)_2$
Nitratos, sulfatos	$Hg_2(NO_3)_2, Hg_2SO_4, HgSO_4$

Varios de los compuestos inorgánicos son químicamente inestables, y por los tanto constituyen una fase intermedia en la formación de compuestos orgánicos. [5]

3.5 El Ciclo del Mercurio

El mercurio no es solo el más tóxico sino el más intrigante de los metales, pues no se sabe que sea esencial para algún proceso metabólico y se acumula en la mayoría de los seres vivos. [5]

Este metal se encuentra naturalmente en una variedad de compuestos orgánicos e inorgánicos, no solo en estado sólido o disuelto, sino también líquido y en fase gaseosa. La transición de mercurio entre esos compuestos y fases es controlada por una multitud de procesos ambientales, que incluyen reacciones fotoquímicas,

oxidación y reducción química, transformaciones microbianas y fraccionamiento fisiológico. ^[4, 5]

El mercurio difiere de otros metales por su carácter orgánico: aparece naturalmente en compuestos organometálicos y tiene una alta afinidad por la mayor parte de los tipos de materia orgánica, especialmente las proteínas de los organismos. Además, el ciclo natural del mercurio ha sido interrumpido y acelerado por las actividades antropogénicas. ^[5]

El comportamiento biogeoquímico del mercurio es complejo, y su entendimiento requiere un estudio de los procesos industriales, atmosféricos geológicos, hidrológicos químicos, microbianos, fisiológicos y ecológicos. ^[5]

En el ambiente el mercurio sigue dos ciclos bien diferenciados: uno global, donde circulan los vapores de mercurio metálico y otro local, donde lo hacen los compuestos de dimetilmercurio. A continuación se muestra el ciclo global del mercurio. (Figura 1) ^[6]

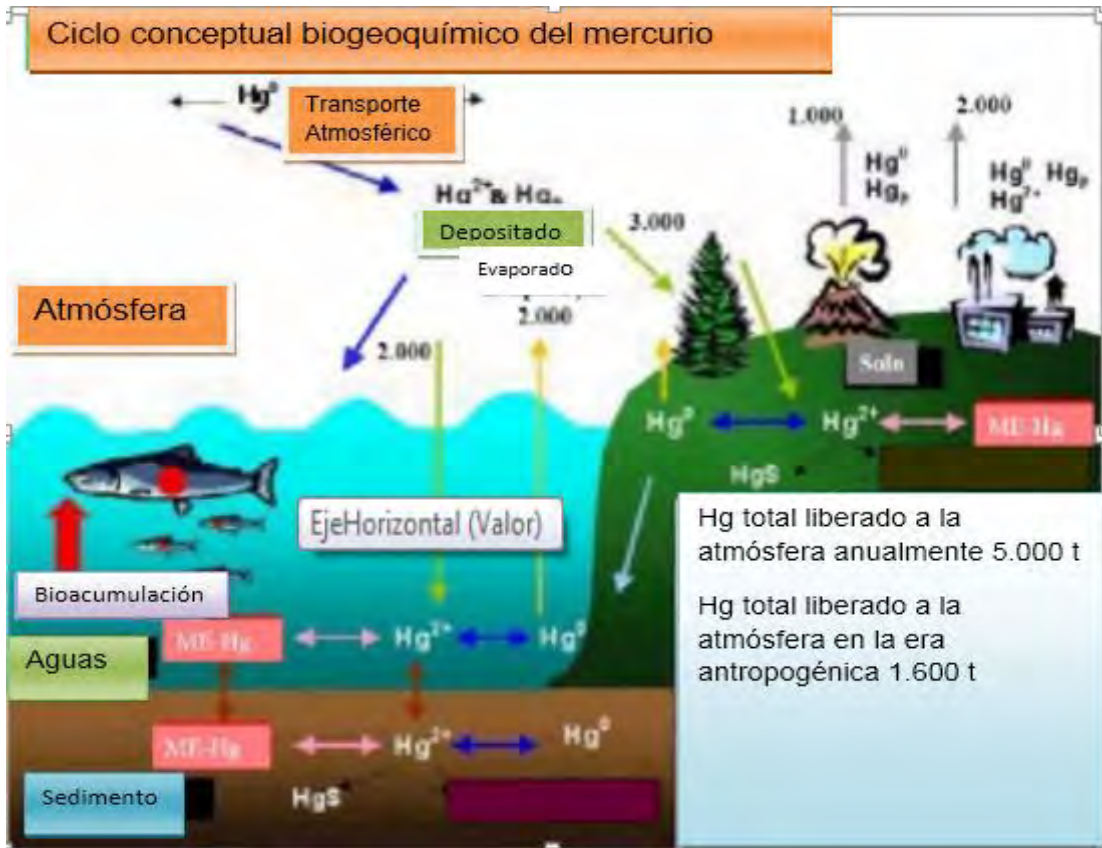


Figura 1. Ciclo Global del Mercurio

3.6 Ciclo Global

El ciclo global de los vapores de mercurio elemental circula a partir de continentes, fruto entre otros de la desgasificación de la corteza terrestre, hasta los océanos. El mercurio es emitido a la atmósfera en forma de vapor elemental (Hg^0), en donde se transforma a una forma soluble, probablemente a Hg^{2+} y luego retorna a la tierra con el agua de lluvia en una concentración de $2 \times 10^{-9} g / L$ para dar origen a una concentración en la troposfera de $2 \times 10^{-12} g / L$, en los océanos $2 \times 10^{-9} g / L$ y finalmente de $20 \times 10^{-6} g / Kg$ en los sedimentos marinos. El tiempo de residencia en la atmósfera, del vapor de mercurio es hasta de 3 años mientras que el de las formas solubles es de unas pocas semanas. [7]

3.7 Ciclo Local

En oposición al global, el ciclo local del mercurio se basa en la teórica circulación de los compuestos de dimetilmercurio. El mercurio es liberado principalmente por desechos del ser humano. Una vez en los ecosistemas acuáticos y en presencia de oxígeno casi todas las formas de mercurio (incluida la metálica) pueden oxidarse a Hg^{2+} . [6, 7]

El dimetilmercurio se reduce para dar mercurio metálico en un ambiente anaeróbico, gracias a microorganismos como las pseudomonas. La segunda reacción ocurre en aguas continentales o litorales, transformándose el Hg^{2+} en CH_3Hg^+ (catión metilmercurio) y en CH_3HgCH_3 (dimetilmercurio), desarrollándose por vía aerobia o anaerobia. [6, 7]

Cuando el catión metilmercurio está libre en el agua, puede atravesar las membranas biológicas de los organismos marinos con facilidad por lo que se incorpora rápidamente a las cadenas tróficas acuáticas. Esta facilidad para atravesar las membranas lipídicas unida a su liposolubilidad y a su afinidad por los grupos sulfhídricos de las proteínas hace que el catión metilmercurio sea muy peligroso para los seres vivos. [8]

3.8 Ciclo de Biotransformación

El mercurio es biotransformado, en especial en el agua de los ríos por microorganismos y es incorporado a las cadenas tróficas como catión metilmercurio, el cual es muy tóxico. En la atmósfera, la especie predominante es la de Hg^{2+} , formada a partir de otras especies de mercurio, como el dimetilmercurio, HgO o el propio Hg^0 metal, en diferentes procesos químicos; mientras que en el agua, como se ha dicho, se biotransforma en catión metilmercurio. [6]

Por lo mencionado, es evidente la necesidad de la determinación del mercurio, tanto en el ambiente como en el agua, de ahí la importancia del presente trabajo.

[6]

3.9 Toxicología del Mercurio

El mercurio es un metal pesado y su presencia en el cuerpo humano resulta tóxica a partir de ciertos niveles críticos que dependen fundamentalmente, de un conocimiento de relaciones dosis – efecto y dosis – respuesta. Así mismo, depende del conocimiento de las variaciones en la exposición, absorción, metabolización y excreción en cualquier situación dada. [9]

En los casos en que se llega a un punto crítico en el balance entrada-eliminación de mercurio, aparecen los efectos tóxicos que se manifiestan de diferentes formas de intoxicación: aguda, subaguda y crónica. [9]

3.9.1 Intoxicación Aguda por Vapores de Mercurio

Es muy poco frecuente en el medio industrial, salvo accidentes. Si la vía de penetración es la respiratoria, aparece traqueobronquitis que siempre se acompaña de tos e hipertermia, posteriormente puede aparecer una neumonía difusa con edema intersticial y a veces un neumotórax bilateral. Por inhalación masiva de vapores de mercurio se han descrito algunos casos que empiezan con mareos, ceguera súbita, espasmos musculares y temblor. [10,11]

3.9.2 Intoxicación Subaguda

No es frecuentemente en los laboratorios, no obstante se ha descrito algunos casos con el siguiente cuadro: tos o irritación bronquial, vómitos, diarrea,

estomatitis, ulceraciones en mucosa de la boca, eritrodermia mercurial y proteinuria. ^[12]

3.9.3 Intoxicación Crónica

En la forma más frecuente en el medio laboral y constituye el denominado Hidrargirismo o mercurialismo. ^[5]

3.9.3.1 Mercurio Elemental (Vapor y Compuestos Orgánicos)

Mercurio elemental y compuestos inorgánicos: habitualmente las causas a exposición al mercurio son los vapores de mercurio o combinaciones variadas de mercurio en estado gaseoso o en polvo. Se presentan alteraciones digestivas, como náuseas vómito y diarrea.

Otra alteración importante es al sistema nervioso, en una primera fase aparecen trastornos psíquicos tales como: irritabilidad, tristeza, ansiedad, insomnio, temor, pérdida de memoria, excesiva timidez, debilidad muscular, sueño agitado, susceptibilidad emocional o depresión.

Todo ello constituye el denominado Eretismo Mercurial, este trastorno puede aparecer en personas con exposiciones bajas y provienen de perturbaciones de los centros corticales del Sistema Nervioso Central, acompañándose de modificaciones funcionales del aparato cardiovascular, urogenital y sistema endocrino. En ocasiones concurren alteraciones encefálicas que conducen a un síndrome psico – orgánico definitivo a evolucionar hacia una demencia incluso caquexia. ^[5]

3.10 Métodos de Determinación de Mercurio

El mercurio puede determinarse por varias técnicas, como son Espectrofotometría de Absorción Atómica por flama (EAA), Espectroscopia de Emisión Atómica con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-OES), y Espectrofotometría de Absorción

Atómica (EAA) acoplado a un Sistema de Análisis por Inyección de Flujo (FIAS) y en algunos casos que requieren niveles más bajos como partes por trillón (ppt) se utiliza la amalgamación.^[13]

Sin embargo los métodos de Absorción Atómica por flama, Espectroscopia de Emisión Atómica con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-OES) se utilizan para medir niveles de mercurio en partes por millón, además de que esta técnica no es tan sensitiva por las características que presenta el mercurio.^[13]

La técnica de Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA) acoplado a un Sistema de Análisis por Inyección de Flujo (FIAS), es una técnica eficiente que permite la cuantificación del mercurio en niveles bajos en partes por billón (ppb) como se requiere, según la Norma Oficial Mexicana NOM-250-SSA1-2014, agua para uso y consumo humano. La técnica de amalgamación también es una técnica muy sensitiva pero requiere el acoplamiento del Espectrofotómetro de Absorción Atómica, el Sistema de Análisis por Inyección de Flujo y el Sistema de Amalgamación, por lo que para muchos laboratorios es demasiado caro tener este sistema tan sofisticado.^[13]

Básicamente existen tres sistemas diferentes que normalmente se usan para la generación de vapor frio: manual, flujo continuo e inyección de flujo.

El sistema manual, la muestra es colocada dentro de un vaso de reacción el cual es conectado posteriormente al analizador. Cuando se inicia el desarrollo analítico, se adiciona el reductor a la muestra, se genera una señal la cual se observa en un dispositivo indicador. Este tipo de generadores producen una señal momentánea, por lo tanto puede ser interpretada integrando el área o la altura del pico que se genera. Para el análisis de mercurio, el flujo de vapor se hace llegar a una celda de cuarzo la cual está cerrada en sus extremos y cuenta tan solo con una vía de acceso y una vía de salida de gas. La temperatura de la celda de cuarzo para la determinación de mercurio en este tipo de sistemas es la temperatura ambiente del laboratorio.^[13]

Se mencionan algunas ventajas y desventajas del sistema.

Ventajas

- Bajo costo (comparado con un sistema de flujo continuo o de inyección de flujo).
- Se pueden utilizar grandes cantidades de muestra (10 a 15 mL)
- Límites de detección del método superiores como resultado del uso de grandes cantidades de muestra.
- Puede utilizarse con lodos o muestras que producen precipitaciones después de la reacción.

Desventajas

- El análisis es muy lento.
- Solamente puede ser operado manualmente.
- Alto consumo de reactivos.
- Desprende vapores tóxicos para el analista.

El siguiente sistema es el de flujo continuo, que cuenta con una bomba peristáltica, obteniéndose así un flujo continuo de vapor atómico a través de la celda y por lo tanto una señal que se puede interpretar por integración. En este sistema las soluciones de referencia y muestras son bombeadas y mezcladas junto con los reactivos dentro del generador. Un flujo de gas inerte Nitrógeno o Argón, que actúa como gas acarreador, es introducido en la solución haciendo fluir ésta hacia una bobina donde la muestra, reactivos y gas son totalmente mezclados. El vapor y el líquido son llevados hacia un separador gas – líquido donde ambas fases son separadas, la fase líquida es drenada y el vapor atómico es acarreado hacia la celda de cuarzo. Las temperaturas de este sistema se realizan a temperatura ambiente.^[13]

Se mencionan las ventajas y desventajas del sistema.

Ventajas

-
- Pueden ser automáticos.
 - Tienen la capacidad de hacer determinaciones multielementales secuenciales.
 - Es un sistema más rápido que el manual.

Desventajas

- Es más caro que el sistema manual, su precio es comparable con el sistema de inyección de flujo.
- Si no se presentan periodos de lavado adecuados, se presentan problemas por efecto de memoria.
- Es más susceptible a interferencias químicas que los sistemas manuales o de inyección de flujo.
- Requiere volúmenes de muestra mayores que el sistema de inyección de flujo.

El último equipo de esta categoría es el sistema de inyección, el cual cuenta con una bomba peristáltica, una válvula de inyección de flujo, un separador gas – líquido un manifold de mezclado y una celda de cuarzo. La muestra es bombeada dentro de la bobina de muestra de la válvula de inyección, posteriormente inyectada en el flujo de la solución acarreadora. El reductor borohidruro de sodio o cloruro estano es adicionado al manifold, donde se lleva a cabo la reacción. El separador gas – líquido remueve el vapor generado y es transportado; con ayuda del gas acarreador hasta la celda de cuarzo, la temperatura es de 100 grados centígrados y se hace por medio de una mantilla de calentamiento.^[13]

Se mencionan algunas ventajas y desventajas del sistema.

Ventajas

- Puede ser totalmente automático.
- Es compatible para realizar análisis multielementales secuenciales.
- Presenta mejores límites de detección que los sistemas de flujo continuo.
- Es más rápido que los otros sistemas.
- Menos consumo de muestra que los sistemas manuales y continuos.
- Menos interferencias que los sistemas manuales y los de flujo continuo.

- La celda es calentada eléctricamente, proporciona mejor control de los parámetros experimentales.

Desventajas

- Es más caro que el sistema manual pero comparable con el precio con el sistema continuo.

Es por esto que se trabaja con la técnica de Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA) acoplado a un Sistema de Análisis por Inyección de Flujo (FIAS) ya que tiene la sensibilidad adecuada y no resulta ser muy cara al realizar estas pruebas. A continuación se describe algunos aspectos básicos de la espectroscopia atómica. ^[13]

3.11 Determinación por Espectroscopia Atómica, Generación de Vapor Frío

3.11.1 Espectroscopia Atómica, Generalidades

El desarrollo de la espectroscopia y su aplicación en el análisis químico es relativamente reciente ya que en 1952 se generó el primer equipo comercial de espectroscopia de absorción atómica para la cuantificación de metales ^[14,15]

El término espectroscopia significa la observación y el estudio del espectro, o registro que se tiene en una especie tal como una molécula, un ion o un átomo, cuando estas especies son excitadas por alguna fuente de energía que sea apropiada para el caso. ^[14,15] A continuación se presenta un diagrama del espectro electromagnético. (Figura 2)

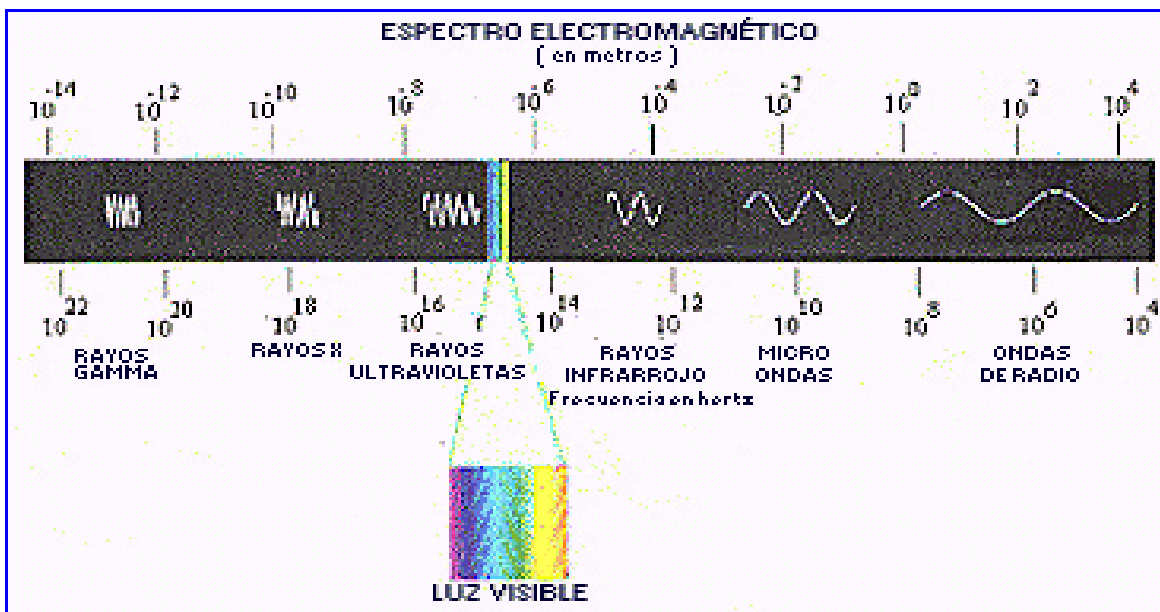


Figura 2. Diagrama de Espectro Electromagnético.

El átomo consiste de un núcleo y un número determinado de electrones que llenan ciertos niveles cuánticos. La configuración electrónica más estable de un átomo corresponde a la de menor contenido energético conocido como “Estado Fundamental”. [14, 15]

Si un átomo que se encuentra en un estado fundamental absorbe una determinada energía, este experimenta una transición hacia un estado particular de mayor energía. Como este estado es inestable, el átomo regresa a su configuración inicial, emitiendo una radiación de una determinada frecuencia. [14, 15]

A continuación se presenta un esquema de un átomo excitado. (Figura 3)

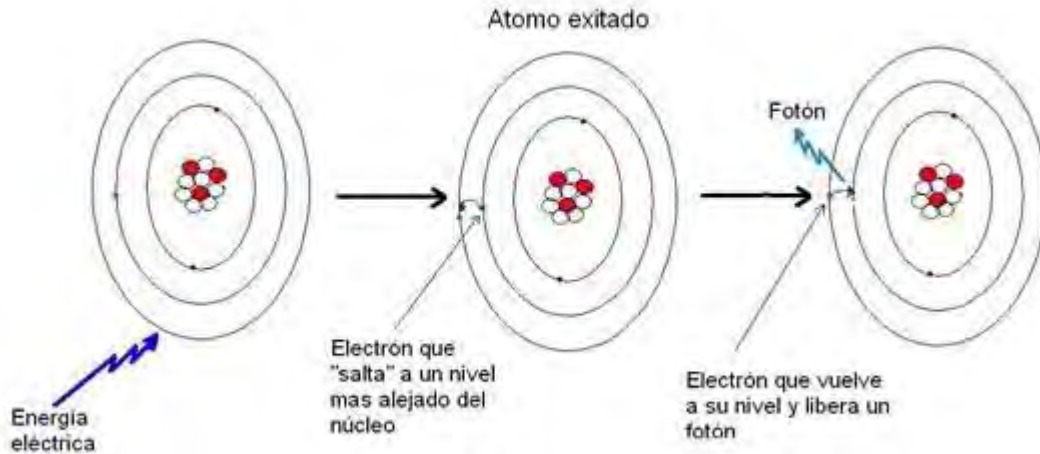


Figura 3. Esquema de un átomo excitado.

La frecuencia de la energía radialmente emitida corresponde a la diferencia energética entre el estado excitado (E_1) y el estado fundamental (E_0) como se encuentra descrito por la ecuación de Planck: (Ecuación 1, 2,3 y 4)

$$\Delta E = E_1 - E_0 \quad [\text{Ec.1}]$$

$$\Delta E = h \nu \quad [\text{Ec.2}]$$

$$\nu = \frac{c}{\lambda} \quad [\text{Ec.3}]$$

$$\Delta E = h \frac{c}{\lambda} \quad [\text{Ec.4}]$$

h = Constante de Planck

ν = Frecuencia

c = Velocidad de la luz

λ = Longitud de onda

Según la teoría atómica, el átomo puede alcanzar diferentes estados ($E_1, E_2, E_3 \dots$) y cada uno de ellos emitir una radiación ($\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3 \dots$) característica, obteniéndose

así un espectro atómico, caracterizado por presentar un gran número de líneas discretas.^[14,15]

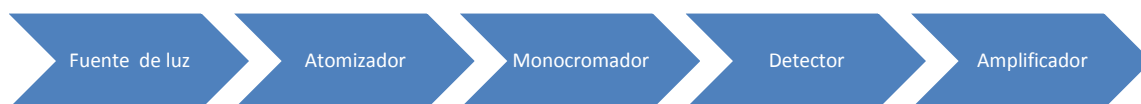
De la ecuación de Planck, se tiene que un átomo podrá absorber solamente radiación de una frecuencia específica. En absorción atómica interesa medir la absorción de esta radiación de resonancia al hacerla pasar a través de una población de átomos libres en estado fundamental. Estos absorberán parte de la radiación en forma proporcional a su concentración atómica.^[16]

La relación entre absorción y concentración se encuentra definida a la ley de Bourguer – Beer–Lambert.

Como el camino óptico de la radiación permanece constante y el coeficiente de absorptividad es característico para cada elemento, la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de las especies absorbentes. De ahí la posibilidad de su aplicación en la determinación de las especies.^[16]

3.11.2 Equipo de Espectrometría de Absorción Atómica

Los componentes básicos de un equipo de absorción atómica son: (Figura 4)



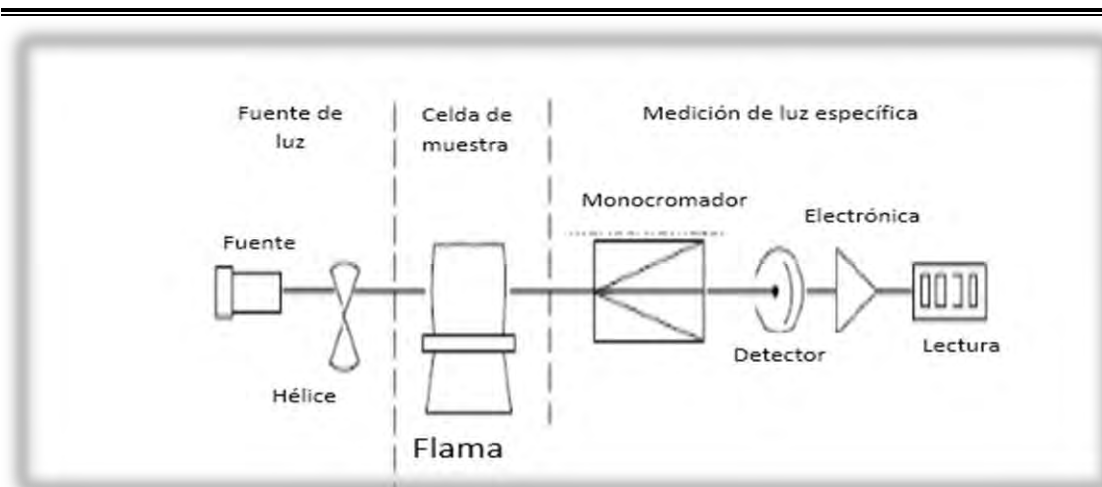


Figura 4. Componentes Básicos de un Equipo de Absorción Atómica.

3.11.3 Fuentes De Luz

En la espectroscopia por lo general se usan dos tipos de fuentes de luz: Las fuentes continuas de luz, que dan una emisión en un amplio rango de longitudes de onda, como por ejemplo, las lámparas de tungsteno, deuterio y la lámpara de arco de xenón. Y las fuentes de línea espectral que emiten radiación en líneas discretas de energía. Típicamente las fuentes de líneas espectrales incluyen a las lámparas de cátodo hueco y a las lámparas de descarga sin electrodo. El láser es también una fuente de línea espectral pero no son de uso práctico para las aplicaciones rutinarias por absorción atómica. ^[14,15]

Idealmente las fuentes de absorción atómica deberían emitir radiación solo a la longitud de onda analítica. Las fuentes de línea espectral se aproximan a esta condición ideal. ^[15]

La fuente más ampliamente usada en absorción atómica es la lámpara de cátodo hueco de la cual existen muchas versiones. La construcción básica de una lámpara de cátodo hueco es la siguiente: Dentro de una envoltura de cristal sellado con una ventana transparente existen los electrodos, el ánodo y el cátodo hueco. El cátodo contiene el elemento a analizar. ^[17] (Figura 5)

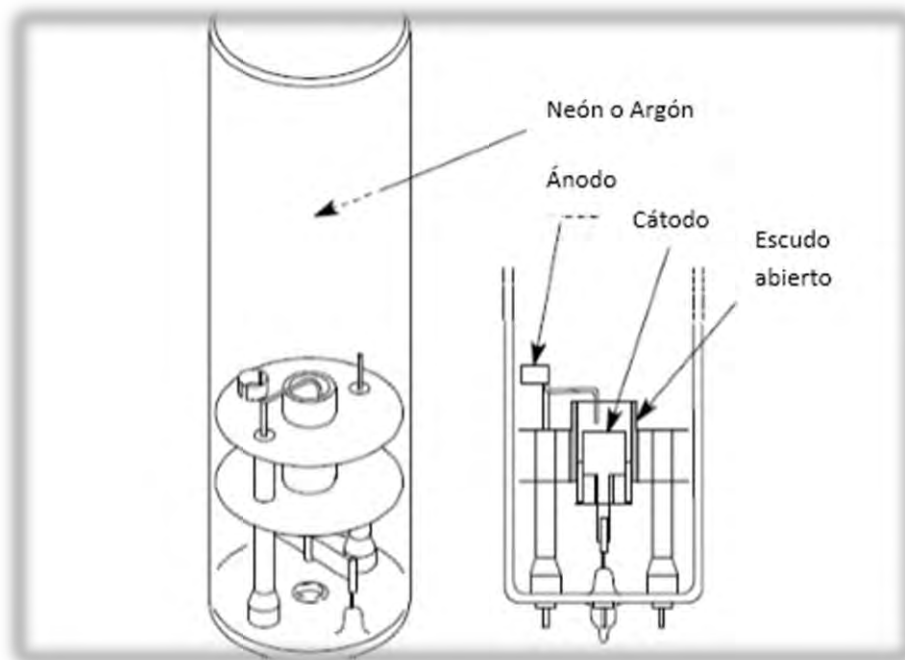


Figura 5. Diagrama de Lámpara de Cátodo Hueco.

La lámpara también contiene un gas inerte tal como el neón o el argón.

La presión del gas es mantenida debajo de 5 Torr ($1 \text{ Torr} = 1.316 \times 10^{-3} \text{ atmósferas}$) a manera de minimizar los efectos de ampliación de la línea espectral.^[17]

Las lámparas de cátodo hueco operan típicamente a voltajes cercanos a los 200 volts. Con corrientes en el rango de 2 a 25 mA. Cuando se aplica alimentación a la lámpara de cátodo hueco, una chispa de descarga empieza el proceso de emisión de partícula. Los átomos del gas se ionizan y son acelerados a la superficie negativa del cátodo donde la colisión causa desprendimiento de átomos del analito.^[17,14]

Los átomos impulsados de los analitos se colisionan con átomos de gas que están ionizados quedando excitados. Los átomos excitados entonces emiten fotones $h\nu$,

que dan a la espectro característico del elemento del analito, es decir energía espectral característica del analito. ^[17]

El espectro atómico emitido por una típica lámpara de cátodo hueco presenta muchas líneas de diferentes intensidades. Las líneas son originadas por los átomos excitados del material del cátodo o por los átomos excitados del gas.

Lo más importante en absorción atómica son las líneas de resonancia del analito. La línea de resonancia principal es la más sensible y corresponde a la longitud de onda de mayor absorción. ^[17]

Las intensidades relativas de estas líneas de emisión pueden cambiar con el diseño de la lámpara y también son afectados por la corriente de la lámpara.

Una gran corriente de lámpara da un haz de luz intensa y mejora la señal a ruido; en algunos casos esto beneficia la presión analítica. ^[17]

Como regla general, las lámparas de cátodo hueco deberán ser operadas por debajo de su corriente máxima. La menor corriente de operación, no solo mejora la sensibilidad y la linealidad, sino que también prolonga la vida útil de la lámpara.

Las lámparas de cátodo hueco están disponibles para todos los elementos que puedan ser determinados por absorción atómica. Ellos son simples fuentes de energía estable e intensa. Cuando las lámparas son operadas adecuadamente, sus líneas de emisión son más angostas que las líneas de absorción de la muestra, lo cual representa un factor clave en las mediciones por absorción atómica que asegura una óptima absorción. ^[14, 13,17]

La lámpara de descarga sin electrodo provee una señal espectral intensa para los elementos que pueden ser fácilmente vaporizados tales como el selenio o el arsénico. Las lámparas de cátodo hueco son por lo general ineficientes para estos

elementos, a excepción de las súper lámparas, que son lámparas de cátodo hueco de mucho más energía que las convencionales y que recientemente superan a las lámparas de EDL en varios aspectos, como son un menor nivel de ruido y una gran intensidad espectral. ^[18, 19] (Figura 6)

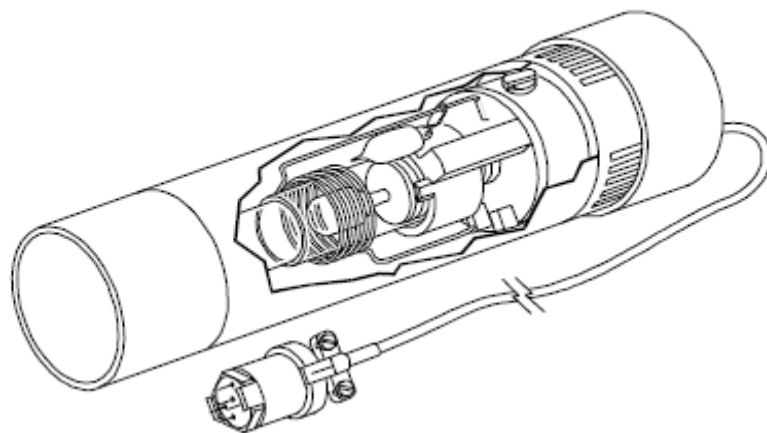


Figura 6. Lámpara de Descarga sin Electrodo.

3.11.4 El Monocromador

La función del monocromador es la de proveer de una línea espectral aislada de otra fuente de radiación luminosa. Esto es necesario debido a que las curvas de calibración solo se obtienen con radiación monocromática.

El monocromador actúa entonces como un filtro ajustable que transmite solo una banda angosta de radiación centrada a la longitud de onda de resonancia. Los instrumentos de absorción atómica modernos, usan monocromadores de rejilla.

La radiación entra por la abertura de entrada y es reflejada por un espejo esférico como un haz colimado. Este haz va entonces a la rejilla de difracción, en donde es dispersado a diferentes ángulos de acuerdo a la longitud de onda. Cuando la rejilla es rotada al ángulo apropiado, la línea de resonancia es dirigida al segundo espejo y de allí a la ranura de salida. ^[14, 15]

La salida espectral de un monocromador no es una sola línea, sino una banda espectral de longitudes de onda. Una salida espectral ideal tiene una distribución

de intensidad luminosa como una función de la longitud de onda. La intensidad de la banda es máxima a la longitud de onda nominal, y cae en ambos lados. El

ancho de banda medido a la mitad de la altura máxima es conocido como amplitud de banda espectral o SBW, que es usado como un parámetro común para definir la resolución. Un monocromador típico de rejilla usado en absorción atómica puede proveer de bandas espectrales tan pequeñas como 0.1 nm y aún menos.^[14] La resolución requerida por el monocromador para mediciones para absorción atómica, depende principalmente de la fuente luminosa.^[19]

La mayoría de los monocromadores están equipados con ranuras ajustables las cuales permiten al operador obtener la resolución más apropiada para el análisis. Los anchos de banda espectrales en el intervalo de 0.1 a 1.0 nm, son generalmente los adecuados.^[19]

En general el monocromador deberá de cubrir un amplio intervalo de longitudes de onda. Como se sabe, los elementos representativos y sus líneas de resonancia se encuentran en las regiones de ultravioleta-visible y en la zona que se encuentra cerca del infrarrojo.^[20, 21]

3.11.5 El Detector

La función del detector es la de convertir la radiación en una señal eléctrica cuantificable, el tubo fotomultiplicador provee de amplificación de detección para entregar una alta señal de salida. Los fotones que entran a través de una ventana, golpean al fotocátodo. Los electrones son impulsados desde el fotocátodo y acelerados por el potencial del primer dinodo, en donde más electrones son liberados. Estos son acelerando en un tercer dinodo, repitiéndose la multiplicación electrónica. Este proceso se repite con cada dinodo hasta que finalmente el flujo electrónico alcanza el ánodo, amplificando cientos de millones de veces, la señal electrónica resultante llega entonces al amplificador principal.^[19]

Para describir el desempeño y calidad de un espectrómetro de absorción atómica para un análisis en particular, usualmente se consideran dos parámetros, la concentración característica y el límite de detección. ^[14,15]

La masa característica también llamada con frecuencia “sensibilidad” se define como la concentración de analito en solución que al ser atomizado en el instrumento, da una absorbancia de 0.0044, esto es una absorbancia de 1%.

Se muestra la ecuación para la masa característica. (Ecuación 5 y 6)

Para mercurio se tiene un valor de masa característica de 314 Pg con 0.0044 de absorbancia.

$$m_o = \frac{(vol\ inyeccion)(conc.STD)(0.0044)}{Abs\ STD} \quad Ec.5$$

$$AbsSTD = \frac{(vol\ inyeccion)(conc.STD)(0.0044)}{m_o} \quad Ec.6$$

m_o = masa característica del elemento

Abs = Absorbancia del Estándar

Para un analito en particular, este valor depende de la línea de resonancia (línea espectral) utilizada, la longitud de la trayectoria de absorción y eficiencia del atomizador. ^[14, 15]

La concentración característica es una cantidad útil para calcular las concentraciones útiles de las soluciones estándar. Estas normalmente están en el rango de 20 a 200 veces la concentración característica. ^[14]

La concentración característica es una medida de que tan sensible es el método de absorción atómica para la determinación de un metal en particular, usando una línea espectral específica. Entre más pronunciada la pendiente de la curva de calibración, más sensitiva la determinación y baja la concentración característica. La sensibilidad del equipo varía con la línea espectral empleada. ^[19]

El otro parámetro comúnmente usado para describir la calidad de un instrumento de absorción atómica es el límite de detección. Se define como la más baja concentración de un elemento que puede ser detectado con un 95% de confiabilidad. Este valor se determina estadísticamente.^[19]

La determinación del límite de detección requiere de hacer varias mediciones a concentraciones cercanas al nivel del blanco. Se utiliza una gran amplificación para poder observar las variaciones debidas al ruido. Es necesario hacer por lo menos 10 mediciones para obtener un promedio (R), se calcula la desviación estándar con la ecuación (7). Y finalmente, el límite de detección se calcula con la ecuación (8).^[19, 22]

$$S = \sqrt{\frac{(R_i - R)^2}{N-1}} \quad [\text{Ec.7}]$$

$$\text{L.D} = \frac{2 \times S}{R \times C} \quad [\text{Ec.8}]$$

S = Desviación estándar

$R_i = R_1; R_2; R_3; \text{ etc.}$

C = concentración del analito

N = número de muestras

L.D= Limite de detección de la muestra

Se requiere muchas mediciones para determinar el límite de detección, y también que las mediciones analíticas hechas en cero o cerca de este límite son menos exactas que a niveles de concentración mayores, debido a la incertidumbre del ruido. Ya que por definición, el límite de detección se relaciona al ruido, esta será mayor cuanto mayor sea el nivel del ruido.^[20, 21]

3.12 Espectroscopia de Absorción Atómica (EAA) acoplado a un Sistema de Análisis por Inyección de Flujo (FIAS)

La espectroscopia de absorción atómica puede acoplarse a otros sistemas, para lograr la determinación de analitos de características particulares, como es el caso del mercurio.

La técnica de Espectrofotometría de absorción atómica (EAA) acoplado a un Sistema de Análisis por Inyección de Flujo (FIAS), es una técnica eficiente que permite la cuantificación del mercurio en niveles bajos expresados en partes por billón (ppb) como se requiere, según la Norma oficial Mexicana NOM-250-SSA1-2014, agua para uso y consumo humano. Límites máximos permisibles de la calidad del agua y requisitos sanitarios que deben cumplir los sistemas de abastecimiento de agua públicos y privados, su control y vigilancia. NOM- 127-SSA1-1994, Salud Ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. ^[23,24]

3.12.1 Espectroscopia de Absorción Atómica acoplado a un Sistema de Análisis por Inyección de Flujo (FIAS)

La Espectroscopia de Absorción Atómica acoplado a un Sistema de Análisis por Inyección de Flujo, es una procedimiento que permite cuantificar algunos metales, el mercurio se determina por la técnica de generación de vapor frío y algunos otros detectables son: Arsénico, Selenio, Germanio, Telurio, Bismuto y Estaño, son elementos que pueden formar hidruros volátiles, y la técnica por la cual se determinan es por generación de hidruros. ^[25]

Es un análisis en el cual se utiliza menor cantidad de muestra, disminuye la producción de residuos que son altamente tóxicos y posibilita la automatización de la técnica. ^[25]

acarreador y en la tubería roja- roja el reductor, la tubería negra- negra es para los desechos. [26, 27]

La válvula de inyección se utiliza para introducir periódicamente un pequeño volumen de muestra en el flujo portador, conforme se transporta la muestra hacia el detector, la muestra y los reactivos se mezclan y forman las especies químicas que pueden registrarse en el detector específico como picos transitorios. [26,27]

El sistema FIAS trabaja de la siguiente manera:

En la tubería rojo-rojo entra el flujo del reductor ($NaBH_4$), pasa directamente hasta el chemifold.

En la tubería amarillo- azul entra el flujo del acarreador (HCl), pasa a la válvula donde se mezcla con la muestra proveniente del automuestreador, posteriormente los excesos salen por la tubería amarillo-azul de la parte superior de la bomba, en la figura 7 se muestra la tubería de color azul.

En la válvula se encuentra la tubería donde va de salida la muestra mezclada con HCl y esta lista para entrar al chemifold. (Figura 7 tubería morada)

En chemifold es donde se lleva a cabo la reacción, en este reacciona el $NaBH_4$ con la muestra acidificada, el mercurio Hg^{2+} pasa a Hg^0 , el vapor de mercurio pasa al separador gas-líquido, es transportado por un gas inerte Argón (tubería naranja) y posteriormente pasa por la tubería que va directamente a la celda de cuarzo (Figura 7 tubería rosa).

Los desechos que salen del separador gas-líquido salen por la tubería negra.

El separador gas-líquido tiene una membrana para evitar que pase líquido hacia la celda de cuarzo.

A la muestra se le adiciona permanganato de potasio, un agente oxidante, debido a que el mercurio que se encuentra en la muestra pasa rápidamente de Hg^{2+} a Hg^0 , para evitar que el resultado no sea confiable se le agrega el agente oxidante para que el mercurio se mantenga en Hg^{2+} , y así poder cuantificarlo totalmente en el espectrofotómetro ya que, bajo estas condiciones al pasar al chemifold donde se lleva la reacción con el $NaBH_4$ (como agente reductor), el mercurio pasa a Hg^0 para posteriormente entrar a la celda de cuarzo y ser

cuantificado por el espectrofotómetro. A continuación se presenta el diagrama del Sistema de Análisis por Inyección de Flujo. (Figura 8)

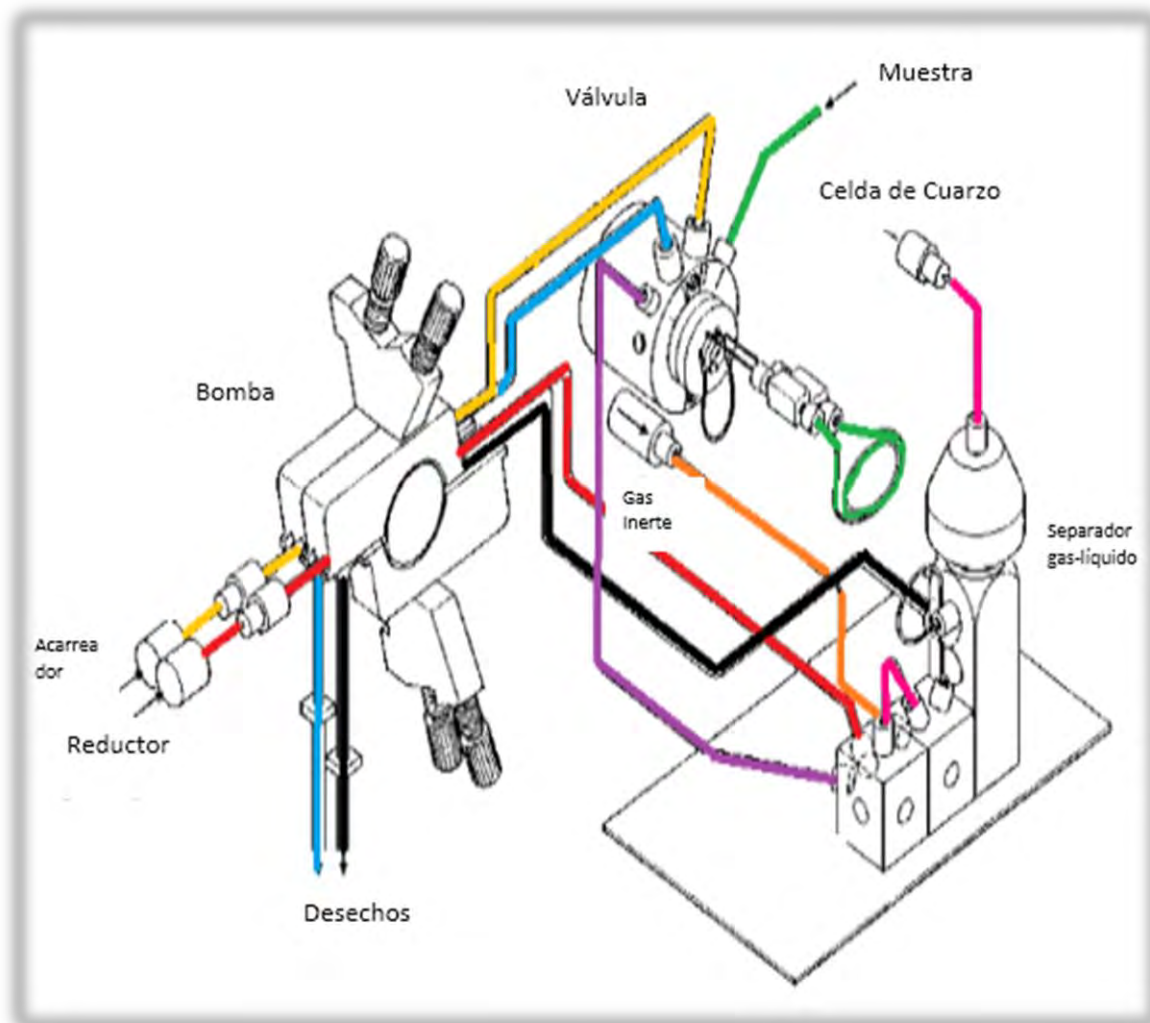


Figura 8. Sistema de Análisis por Inyección de Flujo

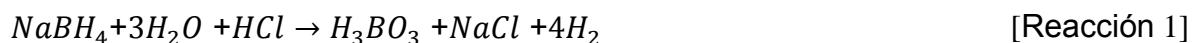
Cabe señalar que en el momento de la detección no se alcanza el equilibrio físico ni químico. Las características del pico dependen de la hidrodinámica del sistema. Al trabajar en condiciones óptimas, la altura y el área de los picos son proporcionales a la concentración y se usan para la determinación de la misma en la solución problema al compararlas con la de los patrones. Al utilizar el sistema de análisis por inyección de flujo es muy importante tener en cuenta que la sensibilidad depende de la cantidad de muestra inyectada, del tiempo de reacción,

de la cantidad que se desecha en el separador gas- líquido, el flujo de argón y las condiciones de la celda de cuarzo. [28]

Para la determinación del mercurio, se usa la técnica de generación de vapor frío, la cual implica la reacción de muestras acidificadas con un agente reductor, como el borohidruro de sodio. [13]

La determinación de mercurio mediante la técnica de vapor frío, requiere que la solución de la muestra reciba un tratamiento según el tipo de matriz de origen para que el mercurio esté en su forma iónica y en solución ácida. Dado que el mercurio tiene una volatilidad apreciable incluso a temperatura ambiente, el vapor de mercurio metálico es impulsado fuera de la solución de la muestra y transportado por el hidrógeno a la celda de cuarzo con un flujo de gas inerte como argón o nitrógeno, la cual está posicionada en el haz de luz, donde se mide su absorción. La celda de cuarzo no se calienta generalmente para la determinación de mercurio, ya que ya fue convertido al estado atómico. [25, 29]

En la reducción que se lleva a cabo con el ácido clorhídrico y el borohidruro de sodio, que es el agente reductor se libera hidrógeno, para el caso del mercurio se genera el vapor y para otros elementos como arsénico y selenio formará el hidruro. [25] (Reacción 1)



Los mecanismos de reacción implicados en la reducción de los iones metálicos son complicados y casi con seguridad se llevan a cabo a través de la formación de radicales intermedios. [30]

En la reacción siguiente se representa la simplificación del proceso. (Reacción 2)



Los métodos de generación de vapor frío son también aplicados para aquellos elementos que pueden formar hidruros volátiles. Un aparato como el descrito para el mercurio es usado para reacción de vapores liberados. Cuando el borohidruro de sodio es adicionado a muestras acidificadas se produce la liberación de hidrógeno gas y el analito es reducido a un hidruro metálico. El hidruro volátil se introduce entonces a una celda de cuarzo a temperatura ambiente. De tal manera, que los átomos libres del analito se produzcan dando como resultado una señal transitoria similar a la del Mercurio. [31, 32]

Muchos de estos elementos son problemáticos cuando se usan los métodos tradicionales por flama. Comparando con las flamas convencionales, los métodos de generación de vapor proveen de varias ventajas. Primero, los efectos de matriz se reducen, debido a que el analito es separado de los otros componentes de la muestra. La mejora en la precisión es otra ventaja especialmente para aquellos elementos que tienen líneas de resonancia en el ultravioleta lejano. Los tubos de absorción y las flamas frías usadas para el vapor de Mercurio y los hidruros, son relativamente transparentes en esta región, entregando ruido muy bajo. Una sensibilidad mayor es una tercera ventaja. Para algunos elementos una mejoría de un millón de veces puede ser lograda, con límites de detección menores a 1 nanogramo. [13, 29]

Dadas las ventajas mencionadas y las características del mercurio y la necesidad de su determinación, el propósito de este trabajo fue el desarrollo de una técnica de análisis para la determinación de mercurio por vapor frío en un espectrofotómetro acoplado al sistema FIAS.

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Diversas investigaciones han reportado que los niveles de mercurio en el medio ambiente han incrementado desde el inicio de la era industrial.

El mercurio puede entrar en un ciclo atmosférico, por los vertidos industriales y atmosféricos o por la combustión de carbones, desde donde se introduce en las cadenas tróficas por el ciclo del agua, o bien se inhala directamente.

También entra directamente en el ciclo del agua, mediante el vertido de residuos a las aguas de los ríos y mares, y a través de vertidos industriales o domésticos (alcantarillado).

Por último, debido al uso agrícola del mercurio, está presente como contaminante en el suelo, desde donde se incorpora a las cadenas tróficas.

La determinación de este elemento es imprecisa, de ahí que se planteó la siguiente pregunta:

Dadas las características del mercurio,

¿Es posible desarrollar una técnica analítica precisa y exacta para la determinación de mercurio en agua por generación de vapor frío usando EAA acoplada a FIAS?

5. HIPÓTESIS

De acuerdo con las características fisicoquímicas del mercurio que permiten la generación de vapor frío, como es la presión de vapor alta que le permite pasar de Hg^{2+} a Hg^0 suponemos que se podrá desarrollar una técnica espectroscópica con generación de vapor frío para la determinación de partes por billón ppb de mercurio en agua potable en un Espectrofotómetro de Absorción Atómica (EAA) acoplado a un Sistema de Análisis por Inyección de Flujo (FIAS).

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo General

Desarrollar una técnica analítica para la determinación de mercurio, optimizando las condiciones de operación de un Espectrofotómetro de Absorción Atómica para la técnica de generación de vapor frío para llegar a determinar concentraciones bajas de partes por billón ppb en agua potable.

6.2 Objetivos Específicos

- Optimizar las condiciones de operación del equipo FIAS (Sistema de Análisis por Inyección de Flujo), y Espectrofotómetro de Absorción Atómica (EAA)
- Evaluar el efecto del pH (a través de la modificación de la concentración del HCl y $NaBH_4$)
- Evaluar el efecto del flujo de las soluciones acarreadora (solución de HCl) y de la solución reductora ($NaBH_4$).
- Evaluar el efecto del flujo del gas de arrastre (Argón).
- Evaluar el efecto de las condiciones Redox (a través del uso de Permanganato de Potasio).
- Evaluar el efecto de los tiempos de reacción (pre llenado, llenado e inyección).

7. METODOLOGÍA

A continuación se describe las técnicas utilizadas, en una primer parte la optimización de las condiciones del sistema de análisis y posteriormente el plan de la validación.

7.1 Optimización de las Condiciones del Sistema de Análisis por Inyección de Flujo (FIAS).

7.1.1 Evaluación del efecto del pH

Para la evaluación del efecto de cambio en la concentración de HCl para la solución de $NaBH_4$ se preparó una solución acuosa del estándar de mercurio de 10 ppb, se llevaron a cabo las siguientes proporciones que se muestran en el cuadro 7.1.1

Cuadro 7.1.1 Evaluación del efecto del pH

Ensayo A		Ensayo B	
Ácido clorhídrico (HCl)	Borohidruro de sodio ($NaBH_4$)	Ácido clorhídrico (HCl)	Borohidruro de sodio ($NaBH_4$)
10%	0.2%	10%	0.5%
5%	0.2%	5%	0.5%
3%	0.2%	3%	0.5%

Tanto las soluciones de HCl como las de $NaBH_4$ se prepararon en agua destilada; a las soluciones de borohidruro de sodio se agregó NaOH al 0.05% como un estabilizador.

7.1.2 Evaluación del efecto del flujo de las soluciones acarreadora (solución de HCl) y de la solución reductora ($NaBH_4$).

Para la evaluación del efecto del cambio de flujo en las soluciones acarreadora y reductora, se realizó con la concentración para el HCl al 3% y para el $NaBH_4$ al 0.2%.(Cuadro 7.1.2)

Cuadro 7.1.2 Evaluación del efecto del flujo de las soluciones acarreadora (solución de HCl) y de la solución reductora ($NaBH_4$).

Flujo para HCl (acarreador) tubería amarillo-azul	Flujo para $NaBH_4$ (reductor) tubería rojo-rojo
9 mL/min	4 mL/min
10 mL/min	5 mL/min
11 mL/min	6 mL/min

7.1.3 Evaluación del Efecto del Flujo del Gas de Arrastre (Argón)

Para la evaluación del efecto del flujo del gas de arrastre, se realizaron varios experimentos con las siguientes flujos; (Cuadro 7.1.3)

Cuadro 7.1.3 Evaluación del efecto del flujo del gas de arrastre (Argón).

Flujo recomendado	Flujo experimental
45 mL / min	40 mL / min
	35 mL / min
	30 mL / min

7.1.4 Evaluación del Efecto de las Condiciones Redox (a través del uso de permanganato de potasio).

Se prepararon dos curvas de calibración con las concentraciones que se muestran a continuación: (Cuadro 7.1.4)

Cuadro 7.1.4 Evaluación del efecto de las condiciones Redox (a través de uso de permanganato de potasio). Concentraciones de la curva de calibración utilizada en la optimización.

Blanco de calibración
2 ppb
4 ppb
6 ppb
8 ppb
10 ppb

Para la evaluación del efecto de las condiciones Redox, se preparó una solución de permanganato de potasio al 5% y de ésta se agregaron dos gotas a una de las curvas, ambas se analizaron el mismo día de forma usual.

Se analizaron ambas curvas de calibración con las condiciones siguientes; la concentración de HCl al 3% y $NaBH_4$ al 0.2% con 0.05% de NaOH, y un flujo del HCl 10mL/min y para el caso de $NaBH_4$ 5 mL/min, con un flujo del gas acarreador de 30 mL/min.

7.1.5 Evaluación del Efecto de los Tiempos de Reacción (Pre llenado, llenado e Inyección).

Las condiciones con las que se inician normalmente son con los tiempos siguientes: (Cuadro 7.1.5)

Cuadro 7.1.5 Condiciones iniciales de los tiempos de reacción (pre llenado, llenado e inyección).

Step/ Paso	Time/Tiempo	Pump/Bomba	Valve Position/ Posición de la válvula		Read/ Leer
#	(s)	Pump 1	Fill	Inject	
Pre llenado	15	120	*		
Llenado	10	120	*		
Inyección	15	120		*	*

Dependiendo el pico y las réplicas obtenidas se cambian los tiempos de pre llenado, llenado e inyección, estos ensayos se realizan con un estándar de 10 ppb. Se corrió el estándar de 10 ppb con las condiciones siguientes; la concentración del HCl al 3% y $NaBH_4$ al 0.2% con 0.05% de NaOH, y un flujo del HCl 10mL/min y para el $NaBH_4$ 5 mL/min, con un flujo del gas acarreador de 30 mL/min, al estándar se le agregó permanganato de potasio (30 μ L).

Se hace Chek de sensibilidad con el objetivo de probar el punto de 10 ppb, requisito en las condiciones de operación del equipo para alcanzar el chek de sensibilidad, se analizó una curva de calibración de las siguientes concentraciones. (Cuadro 7.1.6)

Cuadro 7.1.6. Concentraciones de la curva de calibración.

Blanco de calibración
2 ppb
4 ppb
6 ppb
8 ppb
10 ppb

De no lograr el valor de sensibilidad (0.07 de absorbancia) se repite el proceso de la optimización del equipo.

7.2 Plan de Validación

A continuación, se describe el proceso de validación.

Método de prueba: Determinación de mercurio por Espectroscopia de Absorción Atómica por Generación de Vapor Frío.

Normas, criterios o especificaciones para los cuales se validara el método.

Norma Oficial Mexicana NOM- 127-SSA1-1994, Salud Ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. [24]

7.2.1 Preparación de Disoluciones y Curvas de Calibración.

Disolución estándar de 10 mg/L. medir 1mL de la solución estándar de 1000 mg/L, adicionar 1mL de ácido nítrico concentrado y llevar al aforo con agua destilada en un matraz de 100 mL.

Disolución estándar de 0.1 mg/L. diluir 1mL de la solución estándar de 10 mg/L de Hg, adicionar 1mL de Ácido nítrico concentrado y llevar al aforo con agua en un matraz de 100 mL.

A partir de la disolución de 0.1mg/L preparar la curva de calibración de acuerdo al Cuadro 7.2.1.1.

CUADRO 7.2.1 Intervalos de Curva de Calibración.

Elemento	Intervalo de la curva de calibración		Niveles en la curva	Normas aplicables
	mg/L	mg/L		
Hg	0.0007	0.005	0.0007,0.0015,0.0025, 0,004, 0,0050	Nom-127-SSA1-1994 mod 2000

CUADRO 7.2.1.1 Curva de Calibración para Mercurio.

Concentración (mg/L)	Volumen de disolución estándar de Hg	Volumen de HCl concentrado (mL)	Volumen de disolución de permanganato de potasio μ L	Volumen de la solución (mL)
Blanco de calibración	0	3	30	100
0.0007	700 μ L	3	30	100
0.0015	1.5 mL	3	30	100
0.0025	2.5 mL	3	30	100
0.004	4 mL	3	30	100
0.005	5 mL	3	30	100

En lugar de la solución de permanganato de potasio se puede utilizar otro agente oxidante como el dicromato de potasio o proceder de acuerdo a las recomendaciones del fabricante del equipo.

Adicionar a las muestras, fortificadas y a las disoluciones estándar de control de calidad el mismo volumen de disolución de permanganato de potasio o el agente oxidante seleccionado.

7.2.2 Preparación de Muestras para Validación

Se preparan muestras de 0.0007 mg/L y 0.0025 mg/L considerando los límites máximos permisibles (Cuadro 7.2.2). Se debe analizar 10 submuestras para la determinación del Límite de cuantificación del método (LCM) y para la determinación de exactitud y precisión. (Cuadros 7.2.2.1 y 7.2.2.2)

CUADRO 7.2.2. Submuestras para el LCM Y Exactitud y Precisión

Elemento	LMP NOM-127	Concentración de las muestras a analizar		Volumen por muestra	
		LCM mg/L	Exa y pres mg/L	LCM	Exac y pres
Hg	0.001	0.0007	0.0025	700µL	2.5mL

CUADRO 7.2.2.1 Límite de Cuantificación del método.

Elemento	Concentración (mg/L)	HCL (mL)	Aforo(mL)
Hg	0.0007	3	100

CUADRO 7.2.2.2 Veracidad Precisión y sesgo.

Elemento	Concentración(mg/L)	HCL (mL)	Aforo(mL)
Hg	0.0025	3	100

7.3. Condiciones de Operación del Instrumento Espectrofotómetro de Absorción Atómica.

Se debe ajustar las siguientes condiciones del instrumento de absorción atómica conforme al manual del fabricante.

Colocar y encender la lámpara.

Seleccionar la longitud de onda. Generalmente se trabaja a una longitud de onda de 253.7nm.

Seleccionar la apertura de la rejilla.

Ajustar los flujos del gas acarreador (argón o nitrógeno)

Ajustar la celda

Para equipos automatizados, colocar en uno de los reservorios la disolución de HCl al 3% y en el otro la disolución de $NaBH_4$ al 0.2%.

En lugar de la solución reductora de $NaBH_4$ 0.2% se puede utilizar otro agente reductor como $SnCl_2$ o proceder de acuerdo a las recomendaciones del fabricante del equipo.

Ajustar la bomba peristáltica de acuerdo a las condiciones del fabricante y proceder a la lectura en el equipo.

Ajustar a cero de absorbancia con el blanco de la curva de calibración siguiendo las instrucciones del fabricante.

Optimizar la respuesta con la disolución estándar de verificación de mercurio (Hg).

7.4. Lectura en el Instrumento Espectrofotómetro de Absorción Atómica.

Leer por triplicado el blanco de la curva de calibración para verificar que no haya contaminación y posteriormente leer la disolución de verificación también por triplicado.

Leer por triplicado en el equipo el blanco y los puntos de la curva de calibración. Elaborar una curva de calibración graficando la absorbancia en función de la concentración.

Ajustar la curva por medio de mínimos cuadrados (regresión lineal) o calcular la concentración directamente en el equipo que se programe.

Leer cada una de las muestras por triplicado, registrar la absorbancia promedio y calcular la concentración de Hg a partir de la curva de la calibración.

Asegurarse que las concentraciones de las muestras están dentro del intervalo lineal de la calibración, de no ser así realizarla dilución correspondiente.

El coeficiente de correlación r de la curva de calibración deberá ser ≥ 0.995 . NMX-AA-051-SCFI-2001, Análisis de agua-Determinación de Metales por Absorción Atómica en aguas Naturales, Potables, Residuales y Residuales tratadas- Método de prueba.^[33]

Leer diez réplicas por triplicado para el límite de cuantificación del método, se considera el primer punto de la curva de calibración.

Leer diez réplicas por triplicado para precisión y exactitud del método, se considera la mitad del último punto de la curva de calibración. [34]

7.5 Cálculo Periódico del Límite de Detección del Método.

Se recomienda evaluar el límite de detección del método por un periodo mínimo de 3 días para obtener valores más reales. El valor del límite de detección del método debe ser re-evaluado cuando ocurra un cambio de analista, de instrumento y evidentemente si se lleva a cabo una modificación en el método. Cualquier cambio pequeño que sea debe disparar acciones tendientes a evaluar y corregir precisión, exactitud y veracidad. [34]

Sensibilidad del procedimiento. El analista debe verificar en forma periódica el límite de detección.

Se recomienda lo mismo para la exactitud y precisión del método.

Posterior se realizan los cálculos para exactitud y precisión del método.

Si los límites están dentro de lo aceptado el método se acepta, si es rechazado se procede a realizar la prueba nuevamente. [24, 33, 34, 35]

8. RESULTADOS

8.1 Optimización del Equipo

A continuación se presentan los resultados de la optimización del equipo.

8.1.1 Evaluación del Efecto del pH

En el cuadro 8.1.1.1 y 8.1.2 se presentan los resultados de la variación de la concentración de HCl y de $NaBH_4$, se observa que la mayor sensibilidad se obtuvo con la combinación de 3% de HCl y 0.2% de $NaBH_4$.

CUADRO 8.1.1.1 Ensayo A de la Evaluación del Efecto del pH

Ensayo A

Concentración de Ácido clorhídrico	Concentración de borohidruro de sodio	Sensibilidad con estándar de 10 ppb
10%	0.2%	0.078 A
5%	0.2%	0.1120 A
3%	0.2%	0.1410 A

Ensayo B

CUADRO 8.1.1.2 Ensayo B de la Evaluación del Efecto del pH

Concentración de HCl	Concentración de NaBH ₄	Sensibilidad con estándar de 10 ppb
10%	0.5%	0.090 A
5%	0.5%	0.1216 A
3%	0.5%	0.1200 A

8.1.2 Evaluación del Efecto del Flujo de las Soluciones Acarreadora (Solución de HCl) y de la Solución Reductora (NaBH₄)

A continuación se muestran los resultados de modificaciones del flujo, se observa que la mejor sensibilidad se obtuvo con el flujo de 10 mL/min para la solución de HCl (acarreador) y 5 mL/min para la solución de NaBH₄ (reductor).

(Cuadro 8.1.2)

CUADRO 8.1.2 Evaluación del Efecto del Flujo de las Soluciones Acarreadora (Solución de HCL) y de la Solución Reductora ($NaBH_4$).

Flujo para HCl (acarreador) tubería amarillo-azul	Flujo para $NaBH_4$(reductor) tubería rojo-rojo	Sensibilidad con estándar de 10ppb
9 mL/min	4 mL/min	0.1021 A
10 mL/min	5 mL/min	0.1062 A
11 mL/min	6 mL/min	0.1008 A

Con estas condiciones se analizó una curva de calibración completa, utilizando las concentraciones que se muestran, partiendo de una solución madre de 1g/L. Se observa que con la solución de 10 ppb se logra la sensibilidad esperada de acuerdo a las condiciones de operación del equipo. (Cuadro 8.1.2.1)

CUADRO 8.1.2.1 Resultados de Curva de Calibración.

	2 ppb	4 ppb	6 ppb	8 ppb	10 ppb
Línea espectral	Hg 253.65	Hg 253.65	Hg 253.65	Hg 253.65	Hg 253.65
unidades	μ l	μ l	μ l	μ l	μ l
Media	0.0188	0.0424	0.0671	0.0869	0.1062
Des. Est	0.0003	0.0004	0.0013	0.0009	0.0010
% RSD	1.74	0.96	1.92	1.03	0.91
Rep. 1	0.0192	0.0420	0.0657	0.0859	0.1059
Rep. 2	0.0187	0.0422	0.0683	0.0869	0.1055
Rep. 3	0.0186	0.0428	0.0674	0.0877	0.1073

8.1.3 Evaluación del Efecto del Flujo del Gas de Arrastre (Argón)

En el cuadro se presentan los resultados de la variación del flujo del gas de arrastre argón, se observa que la mejor sensibilidad obtenida es con el de 30 mL / min. (Cuadro 8.1.3)

CUADRO 8.1.3 Evaluación del Efecto del Flujo del Gas de Arrastre (Argón)

Flujo recomendado	Sensibilidad con estándar de 10ppb
40 mL / min	0.0590 A
35 mL / min	0.0701 A
30 mL / min	0.0724 A

Con estas condiciones se analizó una curva de calibración completa, utilizando las concentraciones que se muestran, partiendo de una solución madre de 1g/L.

Se observa que con la solución de 10 ppb se logra la sensibilidad esperada de acuerdo a las condiciones de operación del equipo (absorbancia de 0.0724). (Cuadro 8.1.3.1)

CUADRO 8.1.3.1 Resultados de Curva de Calibración.

	2 ppb	4 ppb	6 ppb	8 ppb	10 ppb
Línea	Hg	Hg	Hg	Hg	Hg
espectral	253.65	253.65	253.65	253.65	253.65
unidades	µl	µl	µl	µl	µl
media	0.0092	0.0228	0.0403	0.0553	0.0724
Des. Est	0.0002	0.0007	0.0003	0.0009	0.0002
% RSD	2.38	3.14	0.63	1.54	0.33
Rep 1	0.0090	0.0236	0.0401	0.0561	0.0725
Rep 2	0.0092	0.0224	0.0406	0.0555	0.0721
Rep 3	0.0094	0.0224	0.0404	0.0544	0.0726

8.1.4 Evaluación el Efecto de las Condiciones Redox (a través del uso de permanganato de potasio).

En las Cuadros se presentan la variación de una curva de calibración sin permanganato de potasio y la otra con permanganato de potasio, se observa que hay mejor sensibilidad utilizando el permanganato de potasio (Cuadros 8.1.4.1 Curva con repeticiones del ensayo B).

Ensayo A curva de calibración sin permanganato de potasio

CUADRO 8.1.4 Ensayo A Curva de Calibración sin Permanganato de Potasio

Concentración	Absorbancia
Blanco de calibración	0.0
2 ppb	0.092
4 ppb	0.0224
6 ppb	0.0406
8 ppb	0.0553
10 ppb	0.0730

Ensayo B

CUADRO 8.1.4.1 Ensayo B Curva de calibración con Permanganato de Potasio

Concentración	Absorbancia
Blanco de calibración	0.0
2 ppb	0.0215
4 ppb	0.0471
6 ppb	0.0737
8 ppb	0.0847
10 ppb	0.01129

Curva con repeticiones del ensayo B

CUADRO 8.1.4.2 Curva de Calibración Ensayo B

	2 ppb	4 ppb	6 ppb	8 ppb	10 ppb
Línea	Hg	Hg	Hg	Hg	Hg
	253.65	253.65	253.65	253.65	253.65
unidades	µl	µl	µl	µl	µl
media	0.0215	0.0471	0.0737	0.0847	0.1129
Des. Est	0.0004	0.0010	0.0007	0.0069	0.0006
% RSD	1.88	2.10	1.0	8.18	0.53
Rep 1	0.0211	0.0476	0.0729	0.0852	0.1135
Rep 2	0.0217	0.0477	0.0738	0.0913	0.1127
Rep 3	0.0218	0.0459	0.0744	0.0775	0.1124

8.1.5 Evaluación del Efecto de los Tiempos de Reacción (pre llenado, llenado e inyección).

Se presenta en el cuadro 8.1.5 la variación de la absorbancia, se observa que si la primera réplica es más alta que las dos siguientes, el tiempo puede ser aumentado en el llenado del loop de la muestra.

CUADRO 8.1.5 Variación de la Absorbancia

Réplicas	10 ppb
Réplica 1	0.0900 A
Réplica 2	0.0810 A
Réplica 3	0.0810 A

Se observa en el cuadro 8.1.5.1 el programa de los tiempos de reacción, y el tiempo de llenado el cual fue aumentado para obtener mejor sensibilidad.

CUADRO 8.1.5.1 Programa de Tiempos de Reacción

Step/ Paso	Time/Tiempo	Pump/Bomba	Valve Position/ Posición de la válvula		Read/ Leer
#	(s)	Pump 1	Fill	Inject	
Pre llenado	15	120	*		
Llenado	15	120	*		
Inyección	15	120		*	*

En el cuadro 8.1.5.2 se observa que si la primera réplica es baja, el tiempo en el pre- llenado puede ser aumentado.

CUADRO 8.1.5.2 Variación de la Absorbancia

Réplicas	10 ppb
Réplica 1	0.0901 A
Réplica 2	0.1021 A
Réplica 3	0.1025 A

Se observa en el cuadro 8.1.5.3 el programa de los tiempos de reacción, y el tiempo de pre llenado el cual fue aumentado para obtener mejor sensibilidad.

CUADRO 8.1.5.3 Programa de Tiempos de Reacción

Step/ Paso	Time/Tiempo	Pump/Bomba	Valve Position/ Posición de la válvula		Read/ Leer
#	(s)	Pump 1	Fill	Inject	
Pre llenado	20	120	*		
Llenado	15	120	*		
Inyección	20	120		*	*

De esta manera quedaron los tiempos optimizados para el análisis en el Espectrómetro de Absorción Atómica Pinn Acle 900F y el Sistema de inyección de Flujo FIAS – 200 marcas Perkin Elmer.

Con las condiciones de operación que se que se obtuvieron se analiza una curva de calibración completa, utilizando las concentraciones que se muestran, partiendo de una solución madre de 1g/L. (Cuadro 8.1.5.4)

CUADRO 8.1.5.4 Curva de calibración con Tiempos Optimizados

	2 ppb	4 ppb	6 ppb	8 ppb	10 ppb
Línea	Hg	Hg	Hg	Hg	Hg
	253.65	253.65	253.65	253.65	253.65
unidades	µl	µl	µl	µl	µl
media	0.0198	0.0450	0.0635	0.0929	0.1191
Des. Est	0.0001	0.0004	0.0004	0.0005	0.0010
% RSD	0.58	0.99	0.56	0.53	0.87
Rep 1	0.0199	0.0451	0.0638	0.0923	0.1191
Rep 2	0.0197	0.0454	0.0631	0.0930	0.1181
Rep 3	0.0198	0.0445	0.0636	0.0933	0.1202

Para la optimización del equipo se analizaron curvas de calibración con concentraciones de 2 ppb, 4 ppb, 6 ppb, 8 ppb y 10 ppb, con el objetivo de alcanzar la sensibilidad recomendada de acuerdo con las condiciones de operación del equipo, y una vez alcanzada la sensibilidad, se bajaron las concentraciones de la curva de calibración con el objetivo de crear un método que detecte los límites máximos permisibles para mercurio en agua de acuerdo a la norma NOM-127-SSA1-1994, Salud Ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización.²⁴

8.2 Resultados de la Validación del Método

A continuación se muestran los resultados de la validación del método, se presentan en el cuadro 8.2.1 los resultados de los tres días de análisis para las curvas de calibración. (Figura 8.2.1)

CUADRO 8.2.1 Curvas de Calibración de 3 días Consecutivos para la validación del Método.

Elemento: Mercurio						
Conc.	1er Día (5-nov-2015)		2o Día (6-nov-2015)		3er Día (9-nov-2015)	
mg/L	Absorbancia	Datos de Regresión	Absorbancia	Datos de Regresión	Absorbancia	Datos de Regresión
0,0007	0,0104	r = 0,9999	0,012	r = 0,99984	0,0142	r = 0,99955
0,0015	0,019	m = 0.01128	0,0241	m = 0.01592	0,0276	m = 0.01840
0,0025	0,0303	b = 0.00147	0,0395	b = 0.00021	0,0462	b = 0.00050
0,0040	0,0461		0,0635		0,0755	
0,0050	0,0577		0,0803		0,0915	

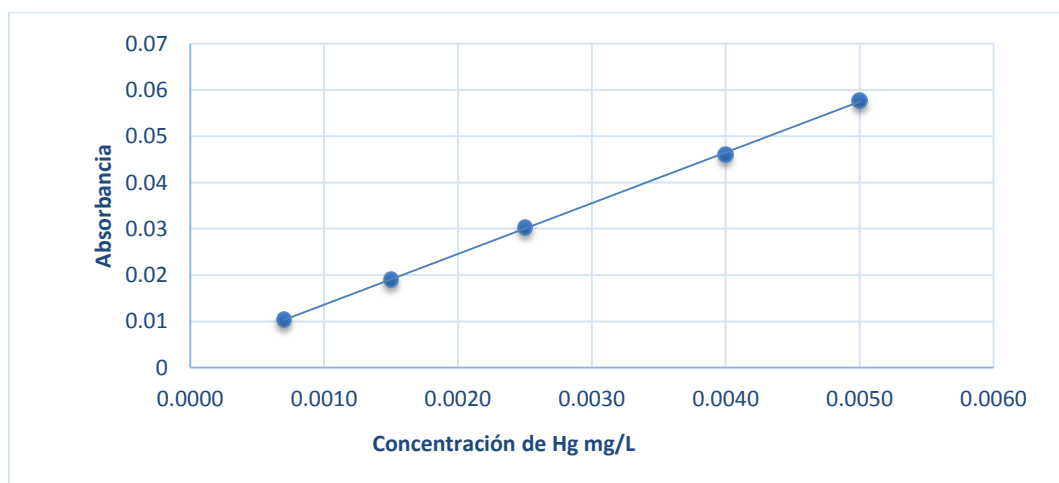


Figura 8.2.1 Gráfica de Absorbancia contra Concentración

Límites de detección y cuantificación del método.

CUADRO 8.2.2 Límites de detección y cuantificación del método.

Elemento	Valor nominal	Fecha análisis	Valor obtenido									
			Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6	Muestra 7	Muestra 8	Muestra 9	Muestra 10
	mg/L		mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L
Mercurio (Hg)	0,0007	05-11-15	0,00071	0,00071	0,00071	0,00073	0,00073	0,00072	0,00071	0,00071	0,00069	0,00070
			5	5	1	2	5	1	7	3	7	1
Mercurio (Hg)	0,0007	06-nov-15	0,00071	0,00075	0,00071	0,00073	0,00071	0,00071	0,00071	0,00075	0,00072	0,00071
			1		1	5	4	6	5		9	
Mercurio (Hg)	0,0007	09-nov-15	0,00071	0,00071	0,00071	0,00071	0,00071	0,00071	0,00071	0,00071	0,00071	0,00071
			6	4	9	4	3	9	7	2	2	6

Elemento	Exactitud del método				Criterios de aceptación ⁵				Observaciones	
	Promedio	Desv. Est.	LDM ¹	Veracidad ²	Precisión ³	LCM ⁴	LDM	Veracidad		Precisión
		s								
Mercurio (Hg)	0,000715	0,000012	0,00003	102,2	1,66	0,05	0,002	95 a 105	≤ 5%	Cumple (ver nota 4)
	7		6				3			
Mercurio (Hg)	0,000724	0,000016	0,00004	103,4	2,20	0,002	0,002	95 a 105	≤ 5%	Cumple (ver nota 4)
	1		8			5	3			
Mercurio (Hg)	0,000715	0,000003	0,00000	102,2	0,37	0,005	0,035	95 a 105	≤ 5%	Cumple (ver nota 4)
	2		8							

Notas:

1. Límite de detección del método (LDM). $LMD = 3*s$
2. Veracidad expresada como % de recuperación.
 $\% \text{ Rec} = (\text{valor promedio}/\text{valor nominal}) * 100$
3. Precisión expresada como desviación estándar relativa
 $(\% \text{ DER}) = (s/\text{promedio}) * 100$
4. criterios obtenidos de la norma NMX-051-2001.

5. Aunque los datos referidos en la norma NMX-051-2001, indiquen que son solo de referencia, se observa que los datos obtenidos se encuentran dentro de las especificaciones.

8.2.3 Límites de cuantificación del Método

Exactitud del Método (Veracidad, Sesgo, Precisión)

Se presenta los resultados del análisis que se realizó por tres días consecutivos de las sub muestras para determinar la exactitud veracidad, sesgo y precisión del método, la concentración de la muestra que se tomó fue el último punto de la curva de calibración dividido entre dos.

Se puede observar que en todas las muestras el porcentaje de recuperación fue menor al 105%, lo cual cumple con la NOM 051. Así mismo el DER de cada uno de los tres días fue menor a 5%.

A continuación se presentan los datos de exactitud y precisión del método. (Tabla 8.2.3)

TABLA 8.2.3 Exactitud y precisión del método

Elemento	Valor nominal	Fecha análisis	Muestra 1		Muestra 2		Muestra 3		Muestra 4		Muestra 5		Muestra 6	
			Valor Obt.	% Rec	Valor Obt.	% Rec	Valor Obt.	% Rec	Valor Obt.	% Rec	Valor Obt.	% Rec	Valor Obt.	% Rec
	mg/L		mg/L		mg/L		mg/L		mg/L		mg/L		mg/L	
Mercurio(Hg)	0.0025	05-nov-15	0.002568	102.72	0.00259	103.60	0.002542	101.68	0.002585	103.40	0.002552	102.08	0.0025	100.00
Mercurio (Hg)	0.0025	06-nov-15	0.002554	102.16	0.00251	100.40	0.002559	102.36	0.00252	100.80	0.002573	102.92	0.00255	102.08
Mercurio(Hg)	0.0025	09-nov-15	0.002567	102.68	0.00256	102.40	0.002594	103.76	0.002535	101.40	0.00256	102.40	0.00259	103.44

Elemento	Muestra 7		Muestra 8		Muestra 9		Muestra 10		Promedio	Desv. Están. s	Precisión Repetibilidad	Criterio de aceptación ¹
	Valor Obt.	% Rec	Valor Obt.	% Rec	Valor Obt.	% Rec	Valor Obt.	% Rec				
	mg/L		mg/L		mg/L		mg/L		mg/L		% DER ²	
Mercurio(Hg)	0.002586	103.44	0.002555	102.20	0.002506	100.24	0.002517	100.68	0.00255	0.0000334	1.311	≤ 5%
Mercurio(Hg)	0.002546	101.84	0.002592	103.68	0.002589	103.56	0.0025	100.00	0.0025	0.000031	1.24	≤ 5%
Mercurio(Hg)	0.002567	102.68	0.002528	101.12	0.002505	100.20	0.002499	99.96	0.0026	0.000032	1.26	≤ 5%

En la tabla 8.2.3 se muestra los valores mínimos y máximos del porcentaje de recuperación así como el promedio de recuperación de cada uno de los tres días, se observa que todos los parámetros cumplen con los límites establecidos en la NOM 051.

Elemento	Veracidad ³		Criterio de aceptación ¹	Sesgo ⁴	Observaciones
	% Rec				
	Valor mín. % Rec	Valor máx. % Rec	Promedio % Rec		
Mercurio (Hg)	100.0	103.60	95 a 105	2.00	Los valores obtenidos se encuentran dentro de los criterios de aceptación
Mercurio (Hg)	100.0	103.68	95 a 105	1.98	Los valores obtenidos se encuentran dentro de los criterios de aceptación
Mercurio (Hg)	99.96	103.76	95 a 105	2.00	Los valores obtenidos se encuentran dentro de los criterios de aceptación

NOTAS:

1. Criterio obtenido del método de la norma NMX-051.

2. Desviación Estándar Relativa (%DER).

$$\%DER = (s/\text{promedio}) * 100$$

3. El dato de veracidad que se compara contra el criterio de aceptación es el promedio, sin embargo, es importante revisar que todos los valores obtenidos se encuentren también dentro de dicho criterio para asegurar que estos son confiables.

4. Sesgo expresado en %.

$$\%Sesgo = ((\text{valor promedio obtenido} - \text{valor nominal}) / (\text{valor nominal})) * 100$$

9. DISCUSIÓN

La determinación de mercurio en el agua es de importancia ya que además de ser el más tóxico de los metales, se desconoce si es esencial para algún proceso metabólico y se acumula en la mayoría de los seres vivos. ^[1]

Es por eso que se desarrolló un método que permita la cuantificación del mercurio, dada la importancia de este metal presente en el agua.

Un buen método debe permitir cuantificar y para esto se evalúan la estabilidad y consistencia del método, límite de detección, límite de cuantificación y exactitud y precisión, además de que el método sea reproducible.

Esto debe estar basado en la NOM-127-SSA1-1994, Salud Ambiental. Agua para Uso y Consumo Humano. Límites Permisibles de Calidad y Tratamientos a que debe someterse el Agua para su Potabilización, donde se especifican los límites requeridos que deben tener las aguas de uso y consumo humano y en la NMX-AA-051-SCFI-2001, Análisis de Agua—Determinación de metales por Absorción Atómica en Aguas Naturales, Potables, Residuales y Residuales Tratadas, donde especifica metodología y límites de recobro a cubrir, en este sentido, el método que se creó permite alcanzar las especificaciones de las normas mexicanas, lo que nos garantiza que es un método eficiente y ha logrado estar dentro de los valores de recobro que establece que van del 95% a 105% por lo que este método es adecuado ya que cumple con la normatividad. ^[24,33]

9.1 Optimización del Equipo

A continuación se presenta la discusión de resultados de la optimización del equipo.

9.1.1 Evaluación del Efecto del pH

Al realizar varias combinaciones de concentraciones del HCl y del NaBH₄, se encontró que la mejor combinación para el HCl es de 3% y para el NaBH₄ del 0.2%. (Cuadro 8.1.1)

Con estas concentraciones encontradas se observa que hay un incremento en la sensibilidad, la sensibilidad obtenida con un estándar de 10 ppb es de 0.1410 de absorbancia, lo cual es un resultado adecuado ya que las especificaciones del equipo establecen que la absorbancia para un estándar de 10 ppb debe estar alrededor de 0.07 de absorbancia. [36]

9.1.2 Evaluación del Efecto del Flujo de las Soluciones Acarreadora (Solución de HCl) y de la Solución Reductora (NaBH₄)

Respecto al flujo de las soluciones acarreadora de HCl y la solución reductora NaBH₄, se encontró que el mejor flujo para la solución acarreadora fue de 10 mL/min y para la solución reductora de 5 mL/min (Cuadro 8.1.2), con esto se obtuvo una mejor sensibilidad, con el estándar de 10 ppb se obtuvo 0.1062 de absorbancia (Cuadro 8.1.2.1). Valor que se considera muy bueno ya que cubre las especificaciones del equipo; al igual que los flujos de referencia en que para la solución acarreadora puede estar entre 9 a 11 mL/min y para la solución reductora 4 a 6 mL/min. [30,36]

Bajo estas condiciones se corrió la curva de calibración en la cual observa que hubo buena repetibilidad en cada una de las réplicas de cada estándar.

9.1.3 Evaluación del Efecto del Flujo del Gas de Arrastre (Argón)

En relación a la variación del efecto del flujo del gas de arrastre (Argón) se observó que el mejor flujo es de 30 mL/min con una sensibilidad de 0.0724 de absorbancia con el estándar de 10 ppb (Cuadro 8.1.3).

Este factor es muy importante ya que si hay un flujo de gas de arrastre mayor, la muestra pasa tan rápido por la celda de cuarzo y el detector no logra cuantificarlo, por tanto la sensibilidad es afectada y baja, así mismo los picos obtenidos pueden aparecer no definidos o más a la izquierda.

Si el flujo de gas de arrastre es demasiado lento, la muestra pasa poco a poco y se observa que en las mediciones no hay repetibilidad, la sensibilidad se ve afectada ya que no se cuantifica la muestra por completo, ya que la concentración de mercurio queda acumulada en el sistema de análisis, en el pico se observa más a la derecha, el pico por lo regular se observa muy concentrado en la cúspide. ^[36,37]

Con un flujo adecuado se observa repetibilidad en las corridas de la muestra ya que se realiza por triplicado las lecturas de cada estándar, se observa una buena sensibilidad y un pico claro y centrado, en este caso, con el flujo de 30 mL/min se lograron las características analíticas adecuadas, se logró buena repetibilidad y picos centrados. ^[37]

9.1.4 Evaluación del Efecto de las Condiciones Redox (a través del uso del permanganato de potasio)

Respecto a la evaluación del efecto Redox para lograr una mejor sensibilidad, se observó un buen efecto al usar permanganato de potasio en las muestras.

Se realizaron dos análisis con curvas de calibración una curva con permanganato de potasio y la otra sin permanganato de potasio y se vio el mejor resultado al usar el permanganato de potasio. Esto se debe a que en las muestras se tiene el mercurio en su forma Hg^{+2} dadas sus propiedades, se volatiliza pasa rápidamente a mercurio elemental Hg^0 , de esta forma al pasar por el sistema de análisis no se logra cuantificar totalmente al mercurio ya que se pierde una cantidad en el medio ambiente debido a que se ha volatilizado; al agregar permanganato de potasio un agente oxidante logramos mantener al mercurio en su forma Hg^{+2} y de tal modo al pasar por el sistema de análisis de inyección de flujo puede ser cuantificado totalmente.

Y en el sistema al reaccionar con el borohidruro de sodio en medio ácido se reduce de Hg^{+2} a Hg^0 , que es la meta tener el mercurio en su forma elemental.

De esta forma se observó que la mejor sensibilidad fue con la curva de calibración con permanganato de potasio y la sensibilidad obtenida con el estándar de 10 ppb es de 0.01129 (Cuadro 8.1.4.1 y 8.1.4.2).^[36,37, 38, 39]

9.1.5 Evaluación del Efecto de los Tiempos de Reacción (pre llenado, llenado, e inyección).

Se realizó la evaluación del efecto de los tiempos de reacción y se observó que son muy importantes, para obtener una buena sensibilidad. Si se optimizan los tiempos de reacción, se obtiene repetibilidad.

Los tiempos que se obtuvieron para el pre llenado fueron de 20 s, llenado de 15 s, y la inyección de 20 s (Cuadro 8.1.5.3).^[40]

Este aspecto es importante ya que de haber desfases entre los tiempos se altera la cantidad de muestra que fiablemente se mide y consecuentemente no hay repetibilidad. Cuando se obtiene en la primera réplica un valor más alto que en las siguientes, puede deberse a que el loop no es llenado completamente y cuando pasa la muestra la primera réplica es alta, pues hay mayor llenado pero conforme pasa la segunda y tercera va disminuyendo debido a que falta muestra y por esto no hay repetibilidad, por lo que para corregir esto se debe aumentar el tiempo de llenado del loop.^[37, 40]

Cuando al contrario se obtiene un valor bajo en la primera réplica, se puede aumentar el tiempo de pre llenado, ya que este patrón se debe a que el tiempo del pre llenado no es suficiente al no llenarse bien será baja la primera réplica y las siguientes serán más altas.^[37,40]

En este caso con los tiempos mencionados se optimizaron los tiempos para obtener una buena sensibilidad y repetibilidad.

9.2 Validación del Método

Se realizó la validación por tres días consecutivos y se observó que el coeficiente de correlación de las curvas de calibración fue mayor a 0.995 como lo especifica la NMX-AA-051-SCFI-2001, Análisis de Agua—Determinación de Metales por Absorción Atómica en Aguas Naturales, Potables, Residuales y Residuales Tratadas, lo cual nos indica que hubo una buena linealidad (Cuadro 8.2.1), (Gráfica 8.2.1).

Para los límites de cuantificación y para exactitud y precisión del método se analizó 10 sub muestras, que es el primer punto de la curva de calibración, se observó repetibilidad para cada lectura de las muestras (Cuadro 8.2.2).^[33]

Se obtuvo para la veracidad un valor menor de 105% lo cual es aceptado por la Norma Mexicana 051 (Cuadro 8.2.2).^[33]

Para la precisión el porcentaje de la desviación estándar relativa (DER) que se obtuvo fue menor al 5% lo cual está dentro de lo aceptado y nos indica que el método desarrollado está correcto (Cuadro 8.2.2).

Considerando que el límite de cuantificación del método (LCM) es el valor más bajo con exactitud aceptable, se observa que en el primer punto de la curva se tienen datos de exactitud aceptables, por lo tanto, se puede considerar que este valor corresponde al LCM (Cuadro 8.2.2).^[33]

Para determinar que el método tiene exactitud, y precisión se analizaron 10 sub muestras con el punto intermedio de la curva de calibración, la cual se obtuvo en cada lectura con repetibilidad (Cuadro 8.2.3).^[33]

En cada lectura se obtuvo un porcentaje de recobro menor al 105% y mayor del 95 %, que es lo que señala la Norma Mexicana 051, lo cual nos indica que esta dentro de los parámetros aceptados (Cuadro 8.2.3).

Se obtuvo un porcentaje de DER menor al 5% la cual está dentro de los límites aceptables de la Norma Mexicana 051.^[33]

Para la veracidad del método se compara con el criterio de aceptación, para la veracidad se obtiene un valor mínimo y un máximo de estos se obtuvo el promedio

y es el que comparamos con el criterio de aceptación este está dado por la Norma Mexicana 051 y es aceptado los valores fueron menores de 105% (Cuadro 8.2.3). Para el sesgo se obtuvieron valores menores del 3% lo que indica que esta aceptado.

Con todo lo que se obtuvo el método que se determinó que es aceptado ya que los recobros indican que están dentro de lo señalado por la Norma Mexicana 051.^[33]

Un buen método debe permitir cuantificar y para esto se evalúan la estabilidad y consistencia del método, límite de detección, límite de cuantificación y exactitud y precisión, además de que el método sea reproducible.

El método que se creó cumple con lo especificado de acuerdo a la normatividad, lo que nos garantiza que es un método eficiente y confiable.^[33]

Podemos decir que el Espectrofotómetro Pinn Acle 900-F acoplado a un FIAS-100 cumplen con lo especificado para el desarrollo de un buen método de análisis de mercurio en agua, cuya medición es de importancia ya que el mercurio como se dijo es un metal tóxico para los seres vivos y en el país no se han tomado las medidas necesarias para la determinación de este metal en el agua.^[33]

10. CONCLUSIONES

Dado que se logró la optimización del Sistema de Análisis por Inyección de Flujo FIAS, con los siguientes resultados.

- Para la Evaluación del Efecto del pH, la concentración de HCl 3% y NaBH_4 0.2%.
- Para la Evaluación del Efecto de las Soluciones Acarreadora (Solución de HCl) y de la Solución Reductora NaBH_4 , el flujo de 10 mL/min para HCl y 5 mL/min para el NaBH_4 .
- Para la Evaluación del Efecto del Flujo del Gas de Arrastre (Argón), el flujo de 30 mL/ min.
- Para la Evaluación del Efecto de las Condiciones Redox (a través del uso de Permanganato de Potasio), se encontró una mejor Absorbancia en la curva de calibración con el uso del permanganato de potasio.
- Para la Evaluación del Efecto de los Tiempos de Reacción (Pre llenado, Llenado e Inyección), los mejores tiempos fueron 20 s para Pre llenado, 15 s para Llenado, y 15 s para inyección.

Dado que se logró desarrollar un Técnica Espectroscópica para el Análisis de Partes por billón ppb de Mercurio en Agua usando Generación de Vapor Frio con las siguientes características:

- 0.07 de absorbancia para un estándar de 10 ppb.
- linealidad en las curvas de calibración (r mayores de 0.995).
- para el límite de cuantificación del método la veracidad menor al 105%, el %DER menor al 5%.
- para la exactitud y precisión del método recobros menores del 105% y mayores del 95% y el % DER menor del 5%.
- para la veracidad el menor al 105% de recobro y el sesgo obtenido fue menor del 3%

Se cumplió con los parámetros de sensibilidad dado por las especificaciones del equipo y con los parámetros establecidos en la NMX-AA-051-SCFI-2001, Análisis de Agua–Determinación de Metales por Absorción Atómica en Aguas Naturales,

Potables, Residuales y Residuales Tratadas, se puede concluir que se logró el desarrollo de una Técnica Espectroscópica con Generación de Vapor Frío para la determinación de partes por billón ppb de mercurio en agua potable en un Espectrofotómetro de Absorción Atómica (EAA) acoplado a un Sistema de Análisis por Inyección de Flujo (FIAS) adecuada y confiable, y que se puede utilizar para la determinación de mercurio en agua.

11. REFERENCIAS

1. Picazo Sánchez J.E. Fernández Vozmediano J.M. Perfeccionamiento y puesta al día, en dermatología. Aspectos Químicos de los Mercuriales. España. 767-776
2. (Picazo Sánchez J.E. Fernández Vozmediano J.M. Perfeccionamiento y puesta al día, en dermatología. Fuentes Naturales y Antropogénicas del Mercurio. España.
3. Mayasa Minas de Almadén. Documento informativo para la Evaluación Mundial del Mercurio. Almadén, España 1994.
4. Sepúlveda Gallego LE, Agudelo Gallego LM, Arengas Castilla A. El Mercurio, sus Implicaciones en la Salud y en el Ambiente. Revista Luna Azul, vol.3 número 4, Universidad de Caldas. Manizales, 1997.
5. Montenegro FA. Evaluación de la contaminación por mercurio en población de mineros artesanales de oro de la comunidad de santa Filomena Ayacucho Perú, durante el periodo 2000-2001.
6. Leyva Ramos R. LuszczewskiKudra A. El Mercurio en el Medio Ambiente. Ingeniería Química número 344. Barcelona, Madrid, 1998.
7. MendiorozS. Mercurio. Instituto de Catálisis y Petroleoquímica del CSIC. Cantoblanco, Madrid 2001.
8. Mendioroz S. Mercurio. Instituto de Catálisis y Petroleoquímica del CSIC. Cantoblanco, Madrid 2001, Doadrio. Villar A.L. Ecotoxicología y acción toxicológica del Mercurio. Académico de número de la Real Academia Nacional de Farmacia. 1995.
9. O.P.S., O.M.S., Criterios de Salud ambiental 1. Mercurio. Las organizaciones, Washington, D, C., 1971.
10. Ozuah PO. Folk use of elemental mercury: a pontential hazard for children J.Natl. Med. Assoc. 2001.

-
-
11. Tirado V, García MA, Moreno J, Galeano LM, Lopera F, Franco A. Neuropsychological disorders after occupational exposure to mercury vapors in El Bagre (Antioquia, Colombia). *Rev Neurol.* 2000.
 12. National Research Council (NRC) Toxicological effects of methylmercury. A report of the committee on the toxicological. Effects of methylmercury, Board on Environmental studies and toxicology. Washington DC; National Academy Press:2000
 13. J.D. Winefordner. Chemical Analysis. Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry 1997.
 14. Atomic Absorption Techniques and Applications. AA-103 Savant. 1995.
 15. Instrumentation for Atomic Absorption. AA-102 Savant. 1995.
 16. Skoog, Douglas A. Holler, F. James. Nieman, Timothy A. Principios de análisis Instrumental. Quinta Edición. Madrid: Mc Graw-Hill/interamericana España 2001-
 17. W.B. Barnett. A. Calibration Algorithm for Atomic Absorption, *Spectrochim. Acta* 39B. 829-836, 1984.
 18. Rocha Castro E. Principios Básicos de Espectroscopia; Editorial UACH, México 2000.
 19. W.B. Barnett. A. Calibration Algorithm for Atomic Absorption, *Spectrochim. Acta* 39B. 829-836, 1984.
 20. Furr.K.ed. CRC Handbook of Laboratory Safety, 3rd ed The Chemical Rubber Co.Press, Florida, USA, 1990.
 21. Bretherick.L. Hazards in the Chemical Laboratory, 3rd, ed Royal Society of Chemistry, London, Uk, 1981.
 22. Neil T. Crosby, John A. Day, William A. Hardcastle. Quality in the Analytical Chemistry Laboratory. 1998.
 23. Mexicana NOM-250-SSA1-2014, agua para uso y consumo humano. Límites máximos permisibles de la calidad del agua y requisitos sanitarios que deben cumplir los sistemas de abastecimiento de agua públicos y privados, su control y vigilancia.
-
-

-
-
24. NOM- 127-SSA1-1994, Salud Ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización.
 25. J.F.Kopp, M.C. Longbottom, and L.B. Lobring-Mercury in Water (Cold Vapor Technique) Revision 1.0(1972).
 26. P.N. Vijan and G.R. Wood, At. Absorpt. Newsl, 13, 33 (1974).
 27. Armienta MA, Castro de Esperanza ML, López CM, Piñeiro AE, Sassone AH. Determinación de arsénico por el método: Absorción Atómica – Generación de Hidruros –FIAS. 2005
 28. Parisi NE, Heyndricks A. Analyst 111, 281 (1986)
 29. B. Welz and M. Melcher, Analyst 108, 213 (1983).
 30. U.S.E.P.A. Standard Methods of Examination of Water and Wastewater, 1983, Methods 206.2 and 207.2
 31. W.B. Robbins and J.A. Caruso, Anal, Chem, 51, 889 (1979)
 32. J. Dedina, Progress in Anal. Spec. 11, 251 (1988).
 33. NMX-AA-051-SCFI-2001, Análisis de agua-Determinación de Metales por Absorción Atómica en aguas Naturales, Potables, Residuales y Residuales tratadas- Método de prueba.
 34. NMX-EC-17025-IMNC-2006 Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración. NMX-AA-SCFI-2001, Análisis de agua- Criterios Generales para el control de la calidad de los resultados Analíticos.
 35. NMX-AA-115-SCFI-2001 Análisis de agua- Criterios generales para el control de la calidad de resultados analíticos.
 36. P.N. Vijan and G.R. Wood, Absorption. Talanta 23, 89 (1976).
 37. P.D. Goulden and P. Brooksbank, Anal. Chem. 46, 1431. (1974).
 38. Raymond Chang Willians College. Química. Séptima.ed. McGraw- Hill.
 39. F. Albert Cotton. Química Inorgánica Básica. Limusa, Grupo Noriega. 1993.

40. Welz B, Schubert – Jacobs M. Evaluation of a flow injection System and Optimization of Parameters for Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry. Department of Applied Research Perkin Elmer D-7770.

ANEXO

Instructivo de operaciones versión 7.4

Acercamiento a la Instalación y Puesta a Punto de la Configuración de Equipos
PinAAcle900F, FIAS-100 de Marca Perkin-Elmer



FIGURA 1. Ejemplo de la instalación de equipos pinAAcle900F, FIAS-100 con sistema de amalgamación.

1.- Instalación de las Mangueras.

Entrada; Amarillo-Azul-Amarillo (manguera para ácido clorhídrico) diámetro de 1.52mm.

Entrada; Rojo-Rojo-Rojo (manguera para borohidruro de sodio) diámetro de 1.14mm.

Salida; Negro-Blanca-Negra (manguera para sacar el excedente de la reacción) diámetro de 3.17mm.

Diagrama del Sistema Automático de Inyección de Flujo

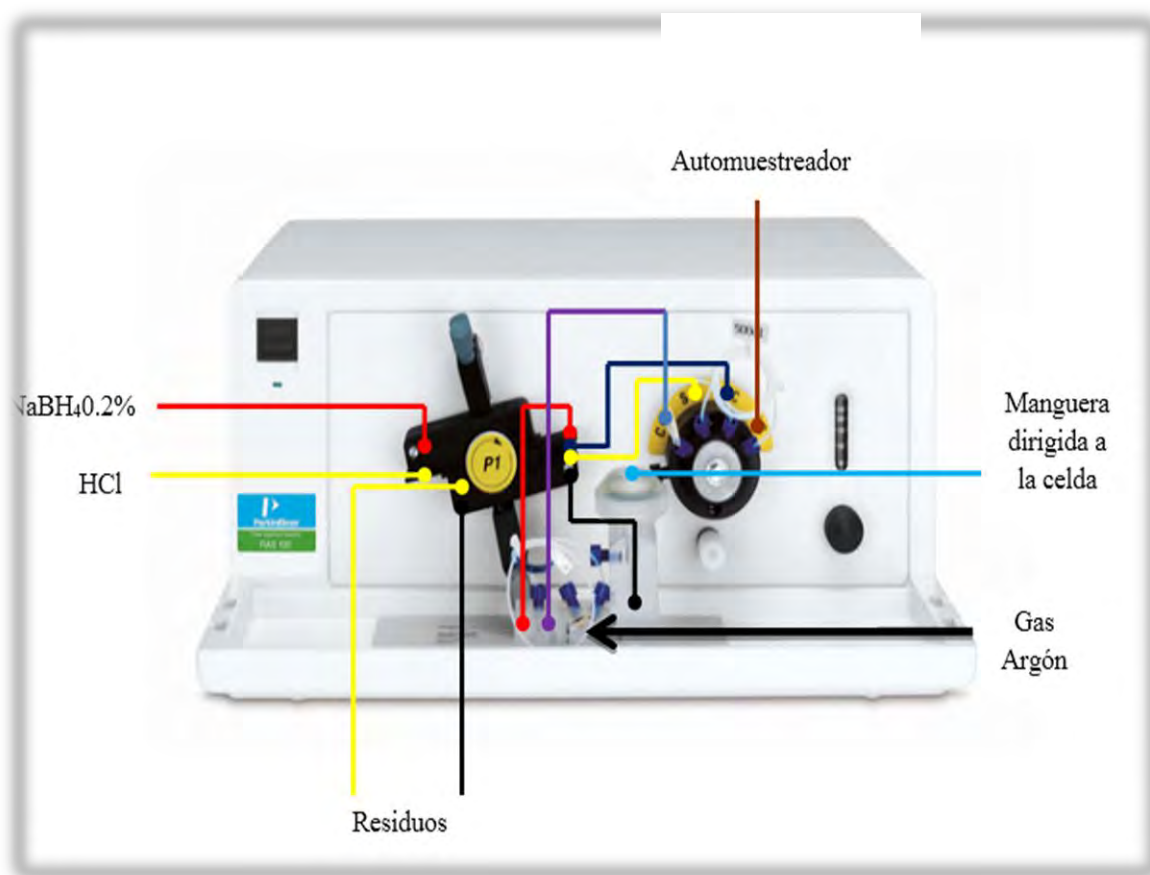


FIGURA 1.1 Diagrama del sistema automático de inyección de flujo.

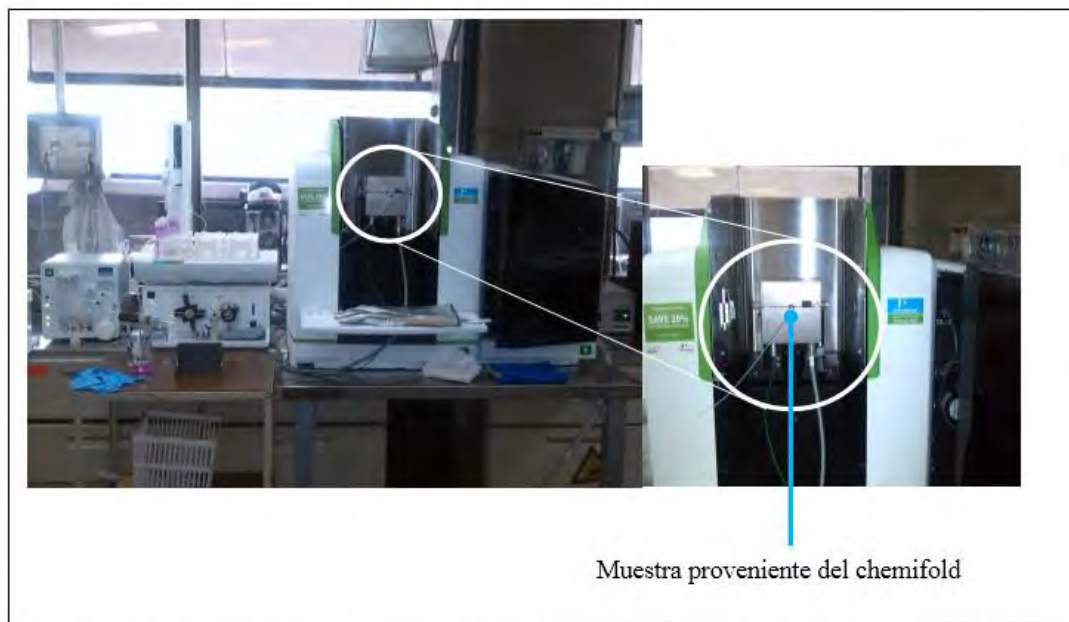


FIGURA 1.2 Ejemplo de Muestra Proveniente del Chemifold que pasa a la Celda de Cuarzo.

2.- Gases

Abrir el paso del aire, y argón. En caso de que el cilindro que contiene argón se debe verificar que la presión de éste no esté por debajo de los 80psi de lo contrario el cilindro debe ser reemplazado por uno con 2500 psi que es la presión típica de un tanque lleno de este gas.



FIGURA 2.0 Presión de Salida de los Gases.

3.- Encendido

Encender los equipos de sus respectivos interruptores.

3.1 Encendido de Reguladores del equipo

Encender los reguladores de los equipos así como también el regulador de la computadora.



FIGURA 3.1 Ejemplo de regulador encendido.

3.2 Encendido de Equipos

Encender el equipo FIAS-100, Espectrofotómetro PinAAcle900F.

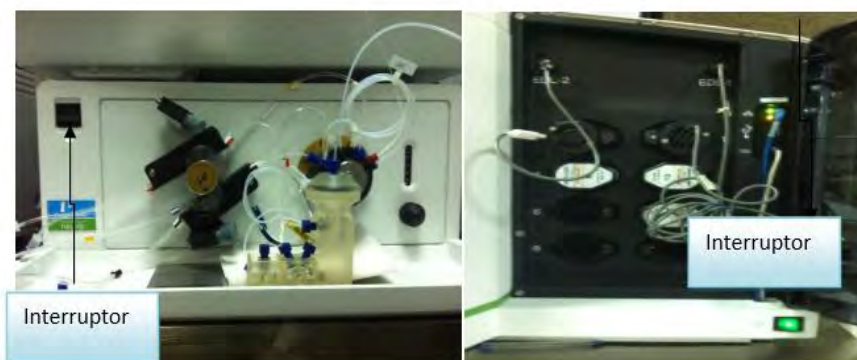


FIGURA 3.2 Ejemplo de interruptores de los equipos encendidos.

3.3 Verificación de Encendido

Verificar que todo este encendido, antes de encender el CPU y el monitor, posteriormente se puede encender.

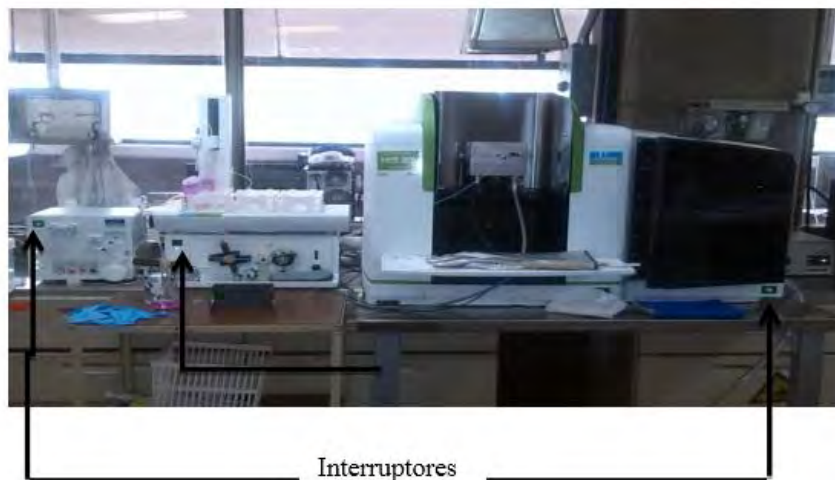


FIGURA 3.3 Verificación de Equipos Encendidos.

4.- Comunicación del software con los equipos.

Ya encendidos los equipos y la computadora;

4.1 Abrir el software dando doble clic en el icono de Win Lab AA.

4.2 Aparece la pantalla principal del software con la ventanilla Diagnostics (Figura 4.2) donde se verifica que exista comunicación del software con el Espectrofotómetro Pin AAcle 900F, FIAS-200 y automuestreador, de lo contrario presionar reconnect.

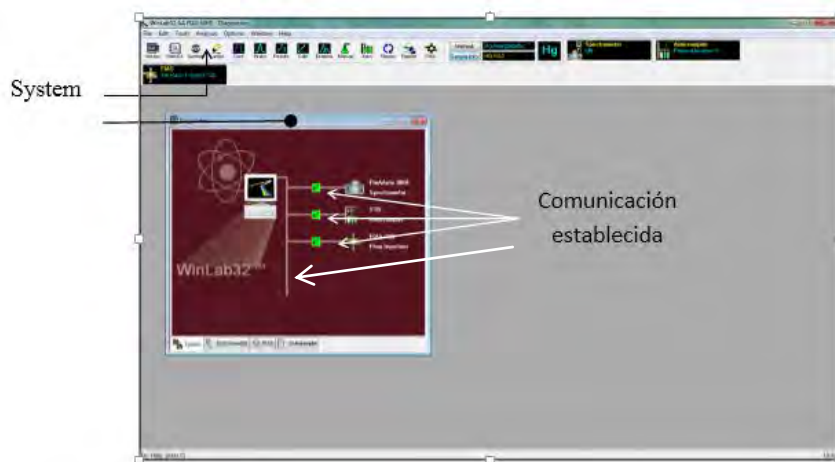


FIGURA 4.2 Comunicación del Software con los Equipos.

4.3 Diagnostics de los Equipos

En la parte inferior de la ventanilla *Diagnostics* están cuatro botones:

Sietem, *Spectrometer*, *FIAS* y *Autosampler*. Al dar clic en alguno de ellos se muestra la información del hardware así como el estatus el cual es útil en caso de no haber una comunicación correcta (Figura 4.3)

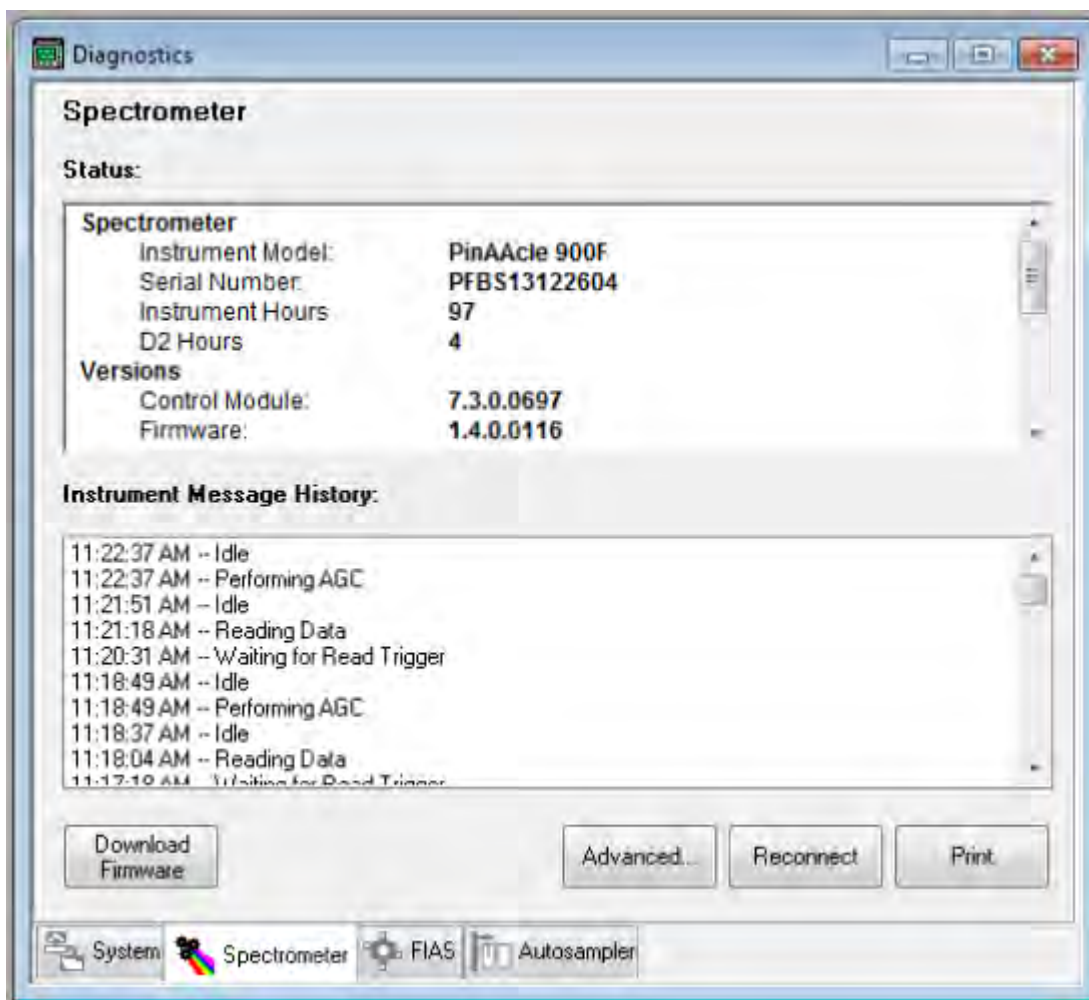


FIGURA 4.3 Ejemplo de Ventanilla de Status e Información del Espectrofotómetro.

5.- Lámparas

5.1 Verificación del Hardware

Una vez que se verifica que no exista problema con ningún Hardware, se colocan las lámparas de los analitos de interés en el Espectrofotómetro (Figura 5.1).



FIGURA 5.1 Ejemplo de colocación de lámparas.

5.2 Lámparas de Interés

Se enciende la o las lámparas de los analitos de interés. Para ello se da clic en el icono Lamps (Figura 5.1) y aparece la ventanilla “Lamp Setup” donde en la parte superior se muestra el estatus de la lámpara seleccionada y los valores de operación. En la parte inferior se encuentran las demás lámparas presentes en el equipo.

5.3 Status de la Lámpara

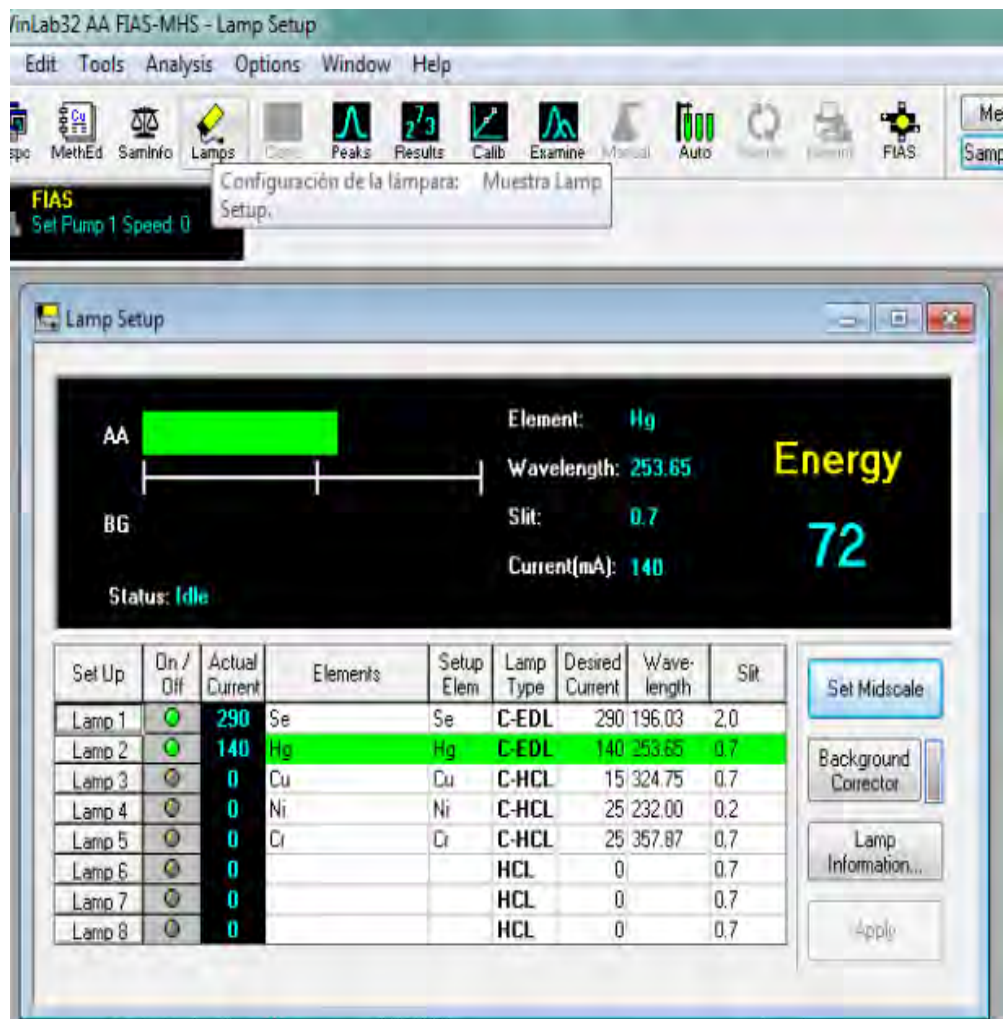


FIGURA 5.3 Ejemplo de Status de la Lámpara de Analito de Interés.

Si se van a utilizar lámparas de descarga sin electrodos (EDL) es necesario que se calienten antes de utilizar se dejen calentar dejándolas encendidas por lo menos con media hora de anticipación, no así para las lámparas de cátodo hueco (HCL por sus siglas en inglés). Esto se logra desde la ventana LampSetup que aparece presionando el ícono Lamp. Para apagar la lámpara se da clic en On / off.



FIGURA 5.3.1 Ejemplo de apagado de lámparas.

6.- Mangueras

Antes de comenzar la revisión de los flujos se deben tensar las mangueras, revisando que estas estén en buen estado.



FIGURA 6.0 Ejemplo de Revisión de Mangueras.

7.- Revisión de flujos

Con las mangueras en probetas con agua (las destinadas al NaBH_4 y HCl), activar la bomba peristáltica desde el software con el botón Pump 1 (presionando en el

ícono FIAS dentro de control). Ésta se debe dejar activada simultáneamente junto con un cronómetro durante 1 minuto y al finalizar este intervalo de tiempo se deben apagar ambos. Transcurrido este tiempo se debe verificar que se hayan consumido de 9 a 11mL en la probeta con la manguera que succiona el carrier (HCl) y de 4 a 6mL para la probeta que succiona el borohidruro de sodio. De lo contrario se debe modificar las presiones aflojando o apretando los tornillos colocados sobre las mangueras que pasan encima y de la bomba peristáltica.



FIGURA 7.0 Ejemplo de Revisión de Flujos.

Tornillo para
aumentar o
disminuir la
presión del
flujo.

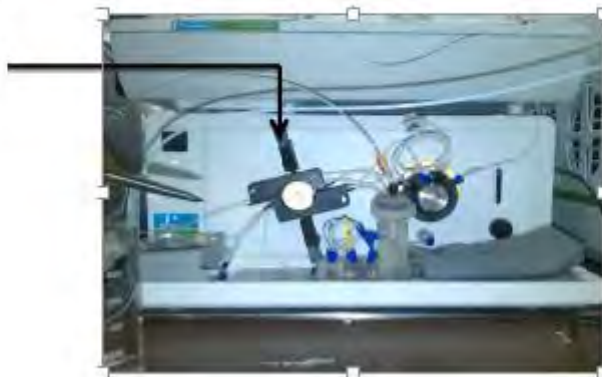


FIGURA 7.1 Ejemplo de para Aumentar o Disminuir el Flujo.

8.- Revisión de Fugas

Otro aspecto que se debe de revisar es la existencia de fugas de todas las conexiones de las mangueras, en caso de existir se debe de apretar bien las uniones. Esto se hace mientras la válvula peristáltica está encendida que como ya se dijo esto se hace con el botón Pump1y ValveFill/Inject desde la ventana FIAS CONTROL que aparece presionando el ícono de FIAS.

9.- Método

Si se va a emplear un método ya existente se da clic en el botón cuadrado que dice *Method* y se escoge el método de interés (Figura 9.0). De no existir método se genera uno dando clic en **File** → **New** → **Method** y aparecerá la primer pantalla del editor de métodos donde se indica el analito (Figura 9.0.1).

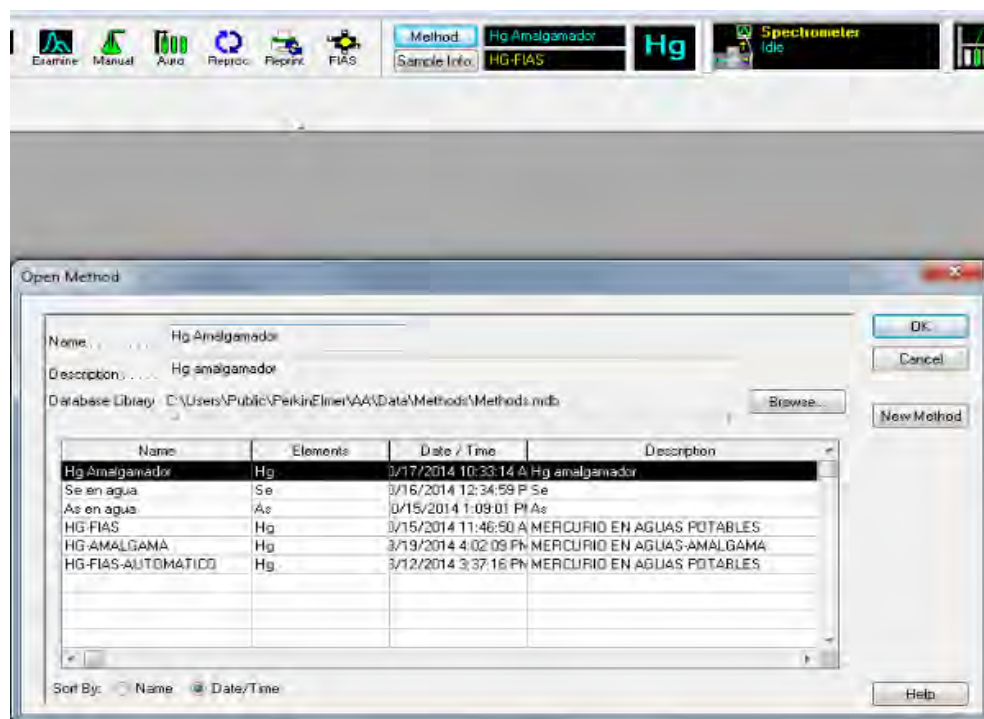


FIGURA 9.0 Selección de un Método ya Existente

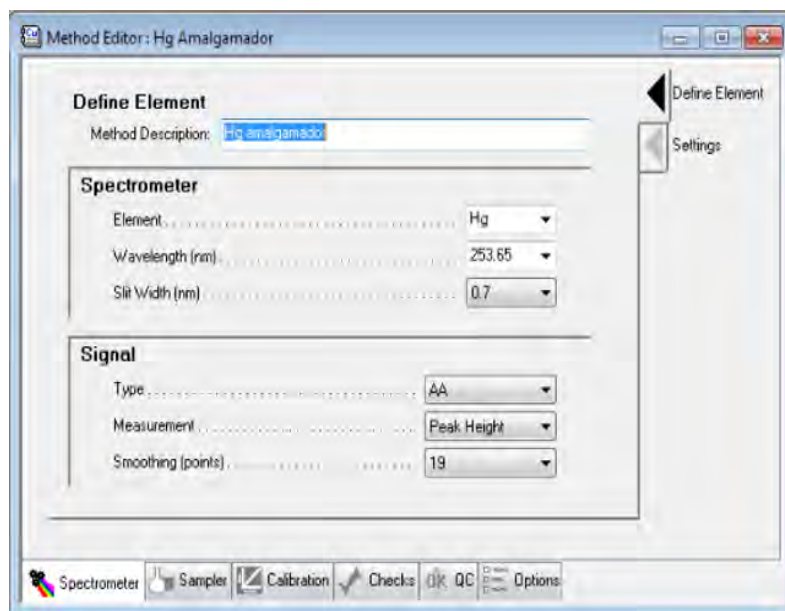


FIGURA 9.0.1 Primer Parte del Editor del Método: Selección del Analito.

9.1 Uso del Amalgamador

Para indicar al software el uso o no uso del amalgamador se da clic en *sampler* y se indica. En caso de que sí se use se le indica también cuantas veces se va a concentrar el mercurio en el amalgamador entre otras cosas (Figura 9.1)

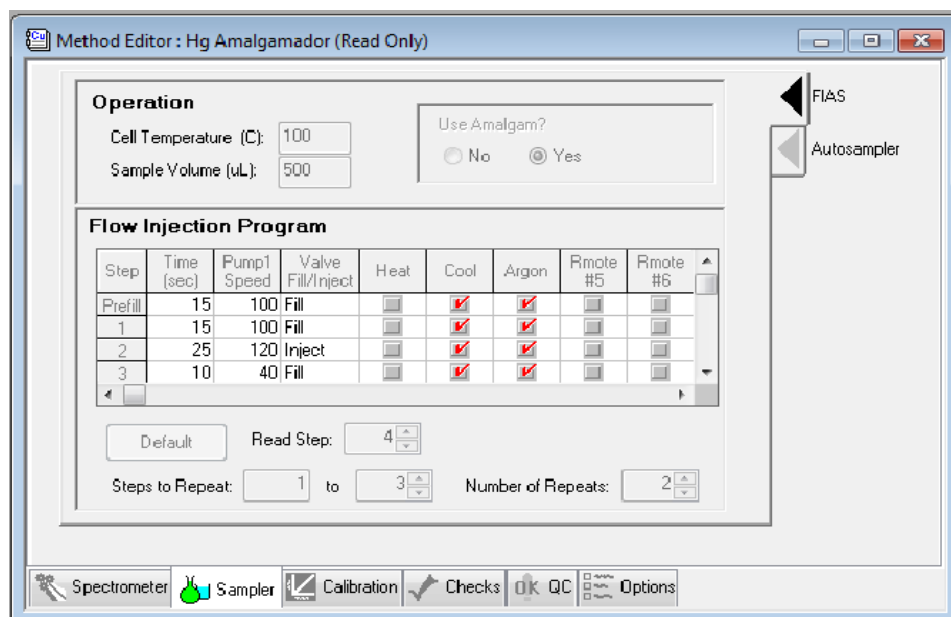


FIGURA 9.1 Ejemplo de Ventana Para Usar el amalgamador e Indicar las Concentraciones.

9.2 Lavado del Capilar del Automuestreador

En la misma parte de *Sampler*, en las opciones de *autosampler* se especifica la frecuencia y modo de lavado del capilar (Figura 9.2)

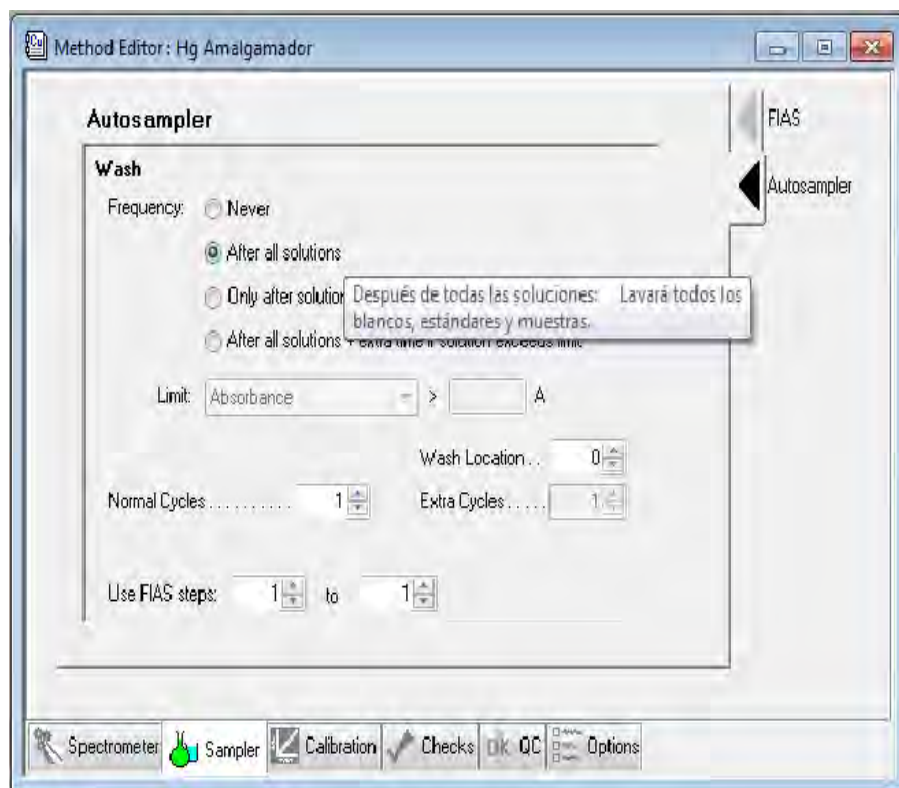


FIGURA 9.2 Ejemplo de la Selección de la Periodicidad de Lavado.

9.3 Ecuación para la Curva de Calibración

Posteriormente se da clic en el tercer botón *Calibration* se indica el tipo de ecuación de calibración a usar, las cifras significativas y las unidades (Figura 9.3).

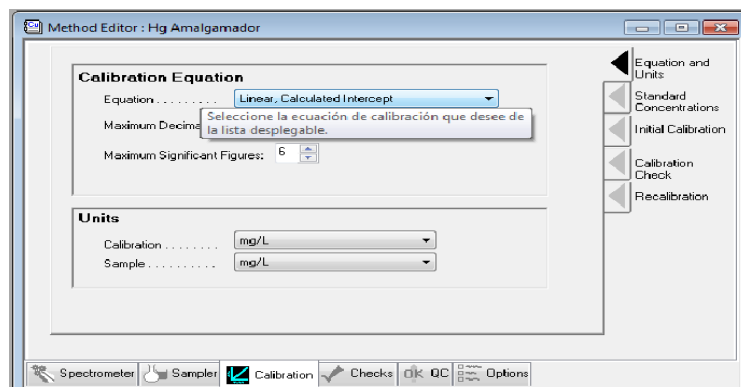


FIGURA 9.3 Ecuación y unidades

9.4 Identificación de los Estándares y Concentraciones

Dar clic en *Standard Concentrations* y dar de alta la identificación del blanco y los estándares con sus respectivas concentraciones y posiciones en el automuestreador (Figura 9.4)

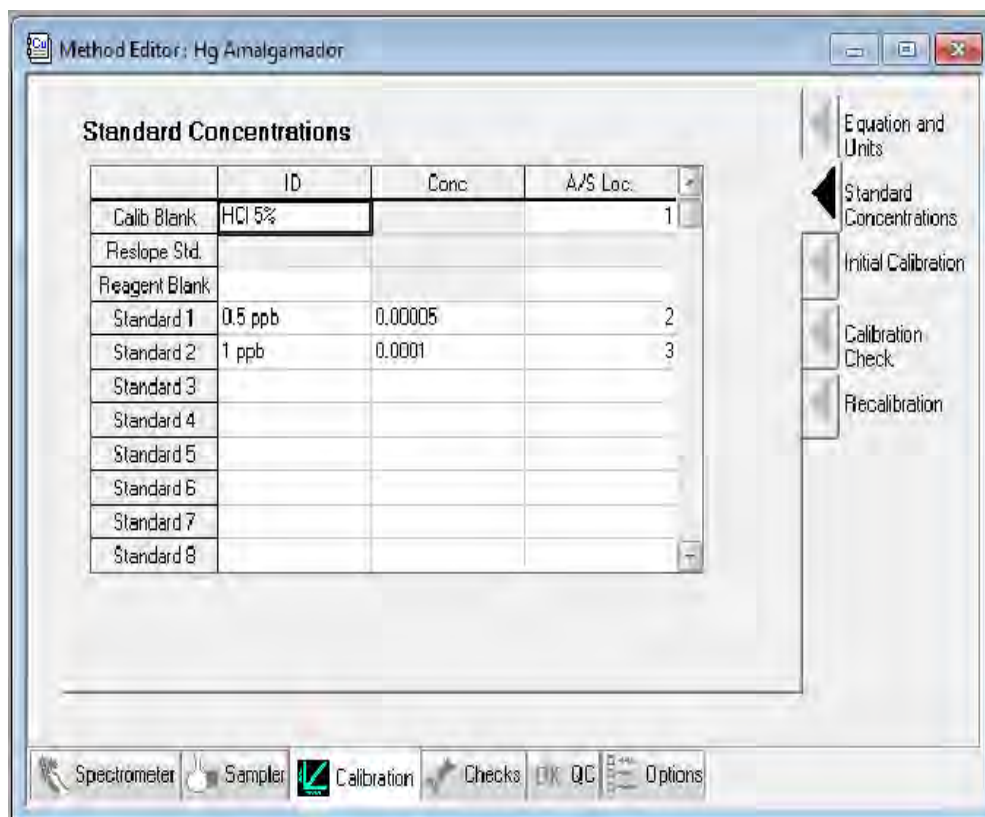


FIGURA 9.4 Estándares y Concentraciones

9.5 Editar el Método

Por último, para generar o editar el método básico en el botón *Options* se indica la manera en que el software entrega el reporte (Figura 9.5).

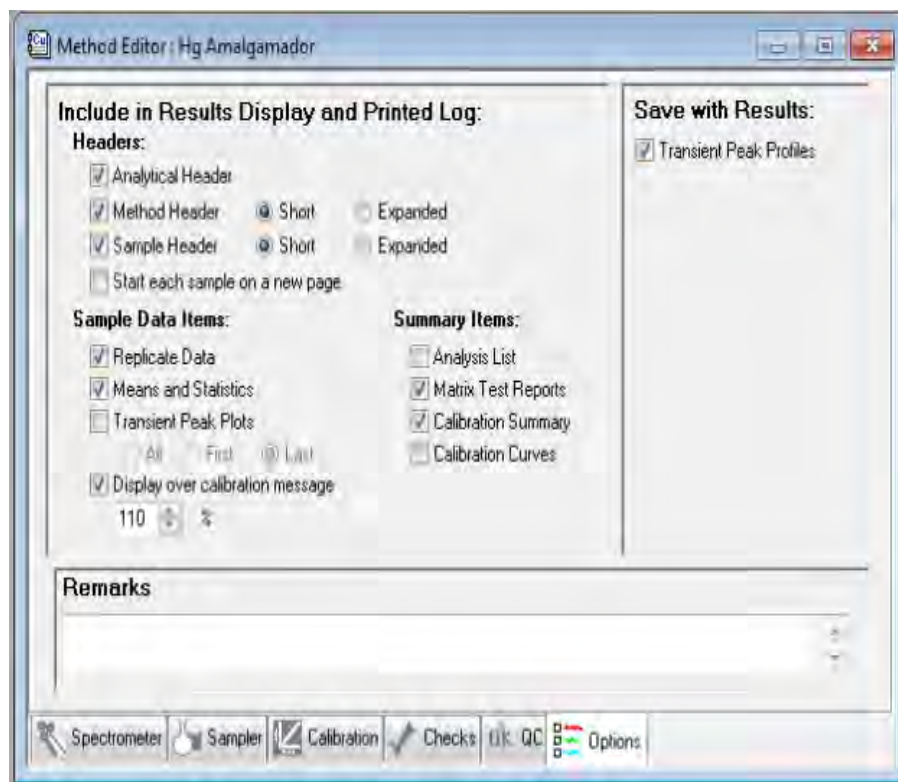



FIGURA 9.5 Opciones de Reporte

9.6 Generación de archivo de Información de la Muestra.

En este archivo se indica la identificación de la muestra, su posición en el automuestreador y el peso o volumen de alícuota tomada para digestión o dilución así como el volumen de aforo en tal caso. Si éste archivo ya existe y se desea

reutilizarlo o editarlo se da clic en el botón cuadrado *Sampleinfo file*  y aparece un menú de donde se selecciona el archivo deseado (Figura 9.6)

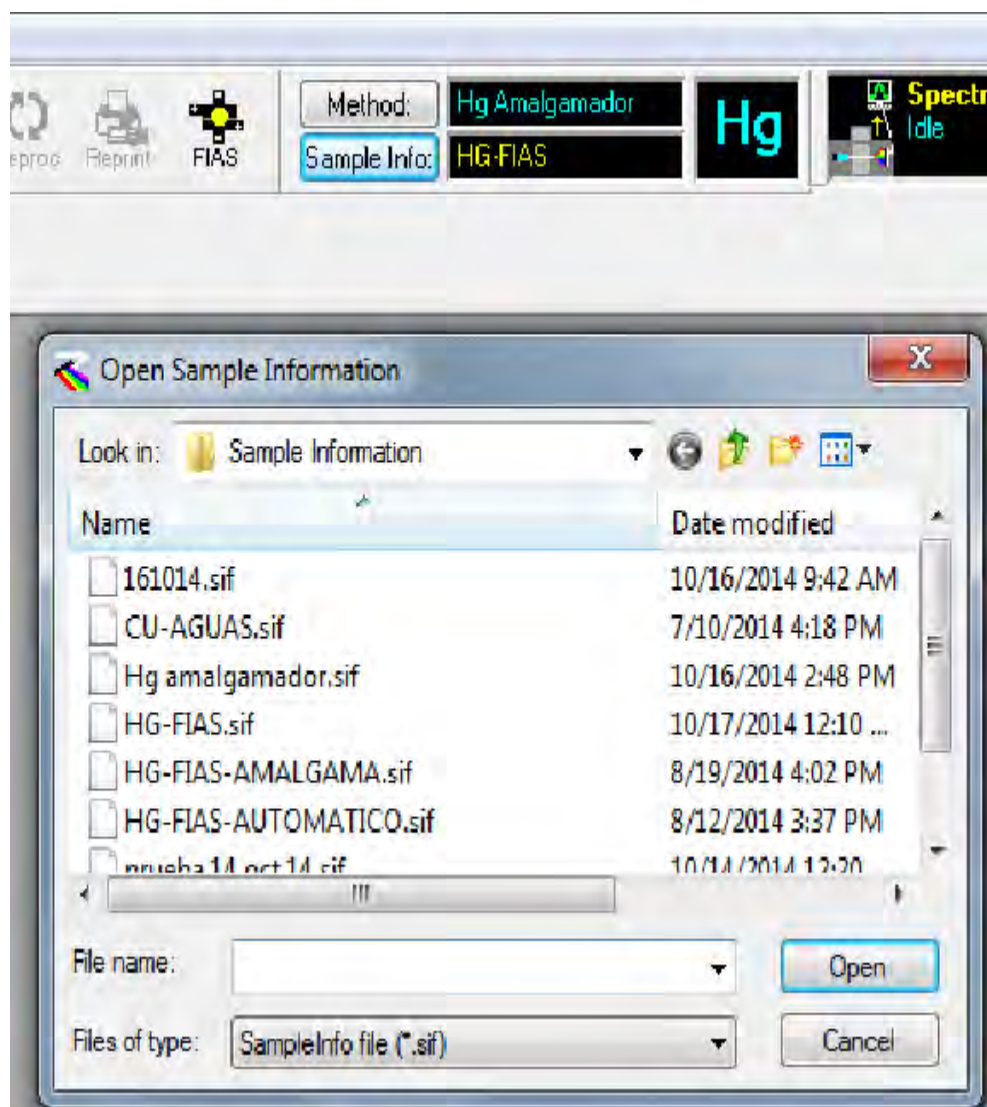


FIGURA 9.6 Selección de archivo con información de la muestra ya existente.

Si el archivo no existe se genera uno dando clic en el ícono *Sample info* aparecerá la pantalla donde se da de alta primero la identificación de la muestra y posteriormente la posición en el automuestreador.

9.7 Analizar Curva de Calibración y Muestras

Para pedirle al equipo que analice la curva de calibración se da clic en el ícono calibrate, posteriormente puede empezar a analizar las muestras y se da clic en Analyze Samples (Figura 9.7).

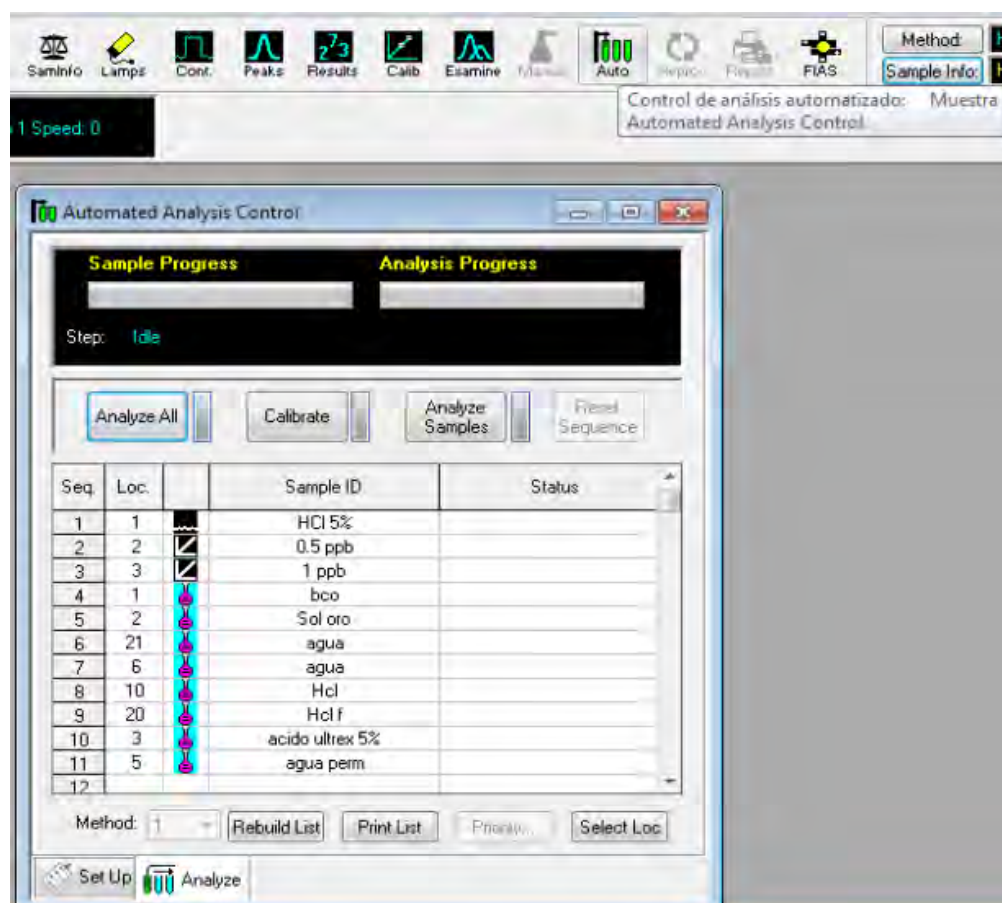


FIGURA 9.7 Controlador de análisis.

En ésta pantalla debe aparecer la curva de calibración seguido de la ID de la muestra con su respectiva posición. En la parte superior se indica el estatus de operación y en seguida los botones con las opciones para indicar que analice todo, sólo la curva de calibración o únicamente las muestras (*AnalyzeAll*, *Calibrate* y *AnalyzeSample* respectivamente).

En caso de las muestras en la pantalla no coincida con lo estipulado en el archivo de información de la muestra se da clic en el botón *Set Up* en la misma pantalla y se pide que considere el archivo deseado de información de la muestra (Figura 9.7.1). Si solo se editó éste archivo se presiona el botón *RebuildList* y se actualizará.



FIGURA 9.7.1 Cambio de archivo de información de la muestra para analizar

Es muy importante pedir al software que guarde los resultados antes de empezar a analizar, de lo contrario toda la información de resultados se perderá. En caso de que no tenga guardado el archivo se presiona el botón *Open Result Data Set Name* y se genera el archivo de resultados (Figura 9.7.2)

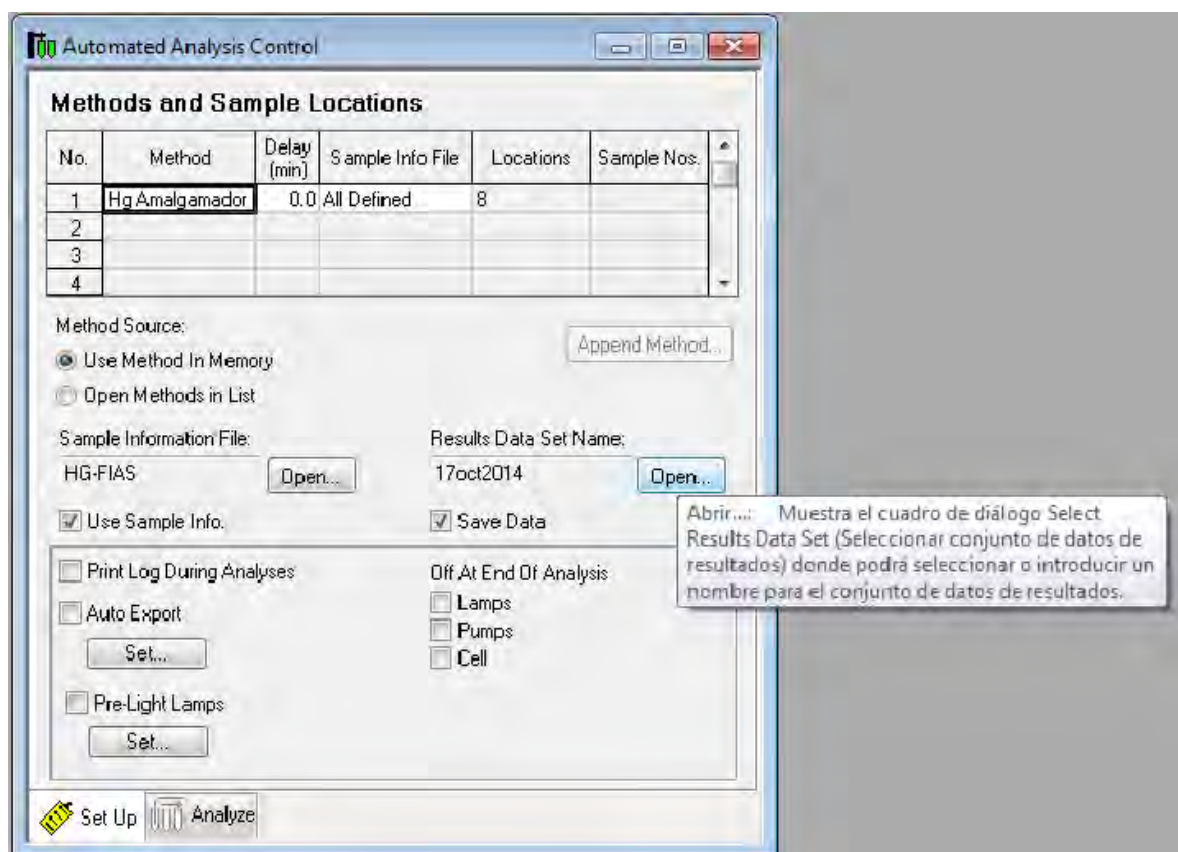


FIGURA 9.7.2 Generar el archivo de resultados

9.8 Alineación de la Celda de Cuarzo

Antes de iniciar a analizar se debe verificar que la celda está alineada usando un papel blanco sobre la ranura del quemador. Se debe garantizar que el haz pase a través de la celda del generador de hidruros, esto se debe realizar con el elemento de cobre, que es el elemento más estable.

Para realizar la verificación con cobre, cambiamos de técnica, le damos un clic a **File** → **Change Technique** → **FIAS- Flame** (Figura 9.8).

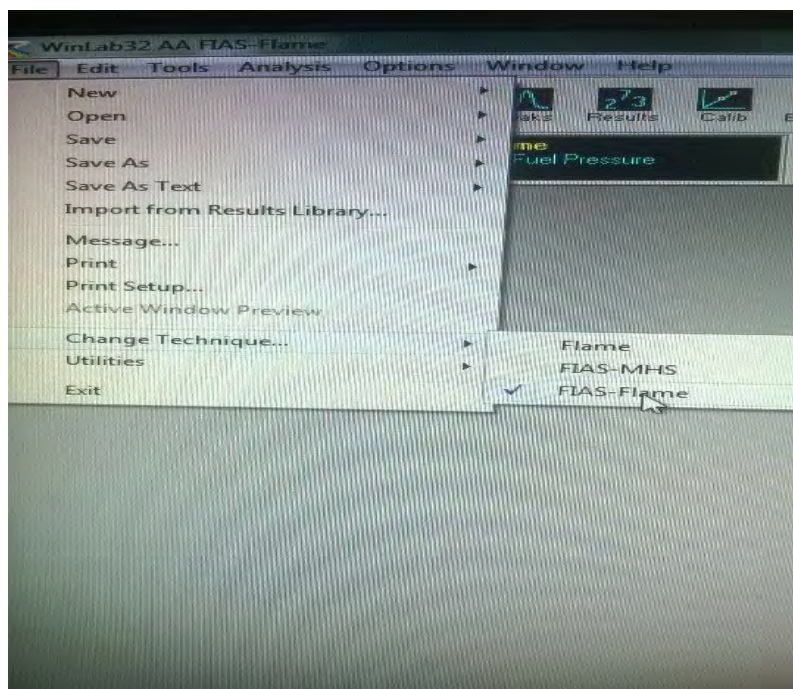


FIGURA 9.8 Ejemplo para Cambiar de Técnica.

Esperamos nuevamente a que el software reconozca el equipo, y podemos comenzar con la alineación, le damos clic al icono de la flama y aparecerá la siguiente pantalla (Figura 9.8.1).

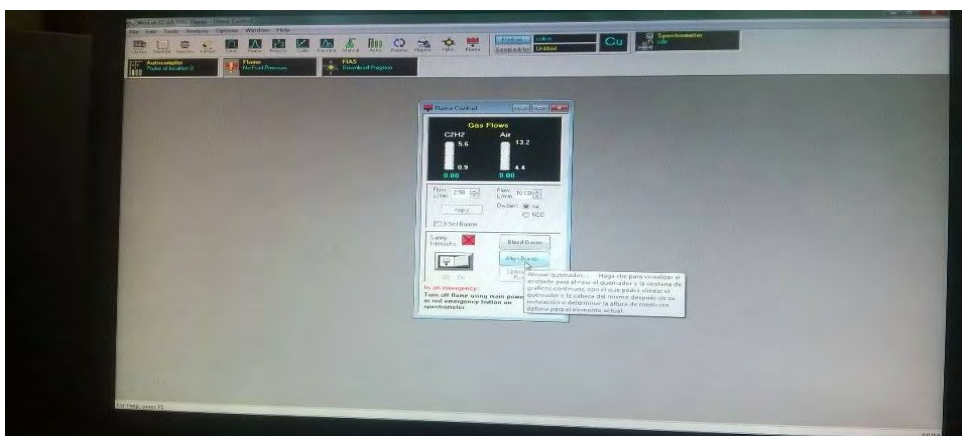


FIGURA 9.8.1 Ejemplo de Alineo Burner.

Le damos un clic a Align Burner, y aparecerá la siguiente pantalla, donde le daremos un clic a I want to manually align the burner, posteriormente le damos clic a Next (Figura 9.8.2).

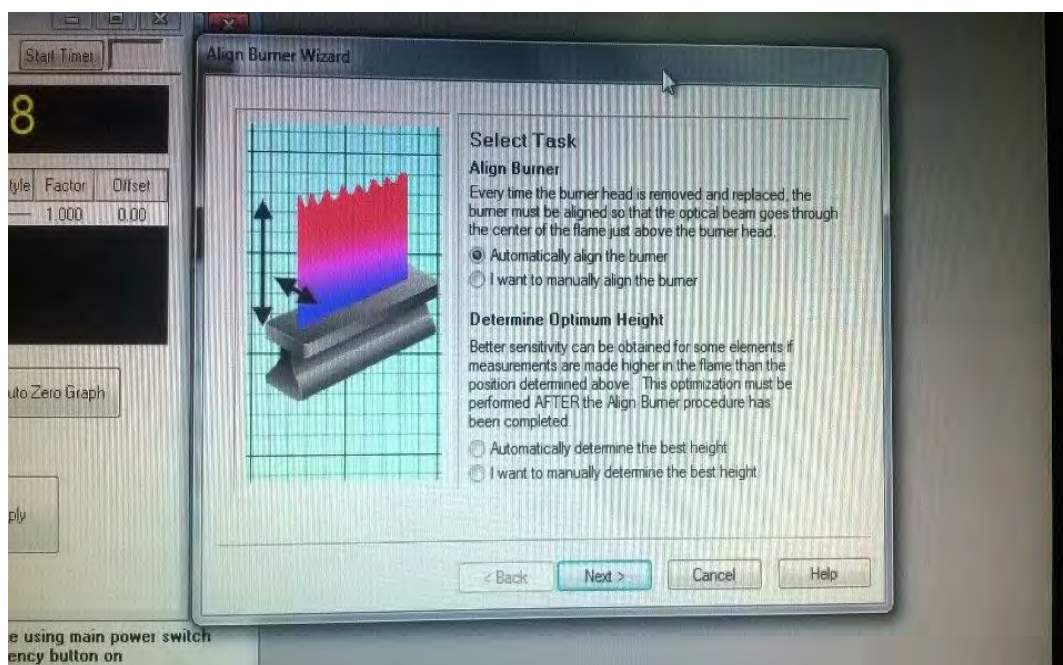


FIGURA 9.8.2 Ejemplo de I want to manually align the burner.

9.9 Verificación de Absorbancia

Se verifica que la señal sea constante y le damos un clic en Auto Zero, posteriormente se retira la celda de cuarzo, y cuando la señal este constante en cero regresamos la celda de cuarzo a su lugar, y empezamos a buscar la absorbancia más baja. Posteriormente volvemos a cambiar de técnica y ahora verificamos la alineación en cada elemento que se vaya analizando (Figura 9.9).

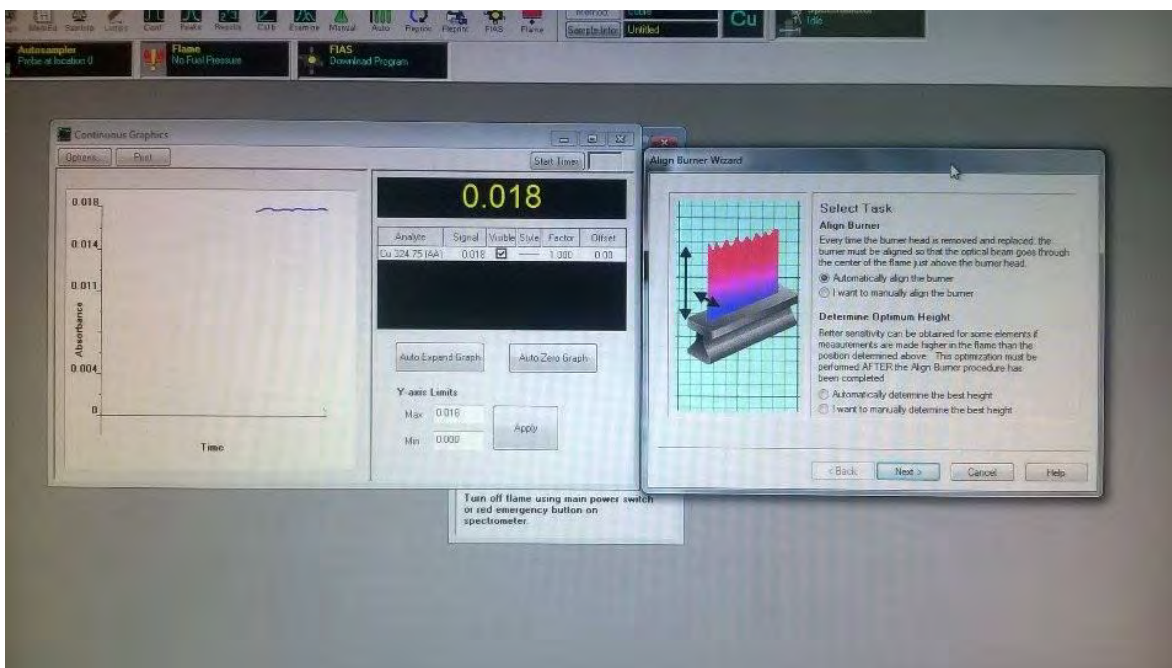



FIGURA 9.9 Pantalla Gráfica de Señal contra Tiempo.

Se debe verificar que la señal sea constante, esto significa que la lámpara ya está lista para ser usada.



Se clic en el botón *continuous*  y aparecerá una ventana donde se grafica la absorbancia contra el tiempo (Figura 9.9.1). Se recomienda restablecer la escala de la absorbancia manualmente de cero a 0.800.

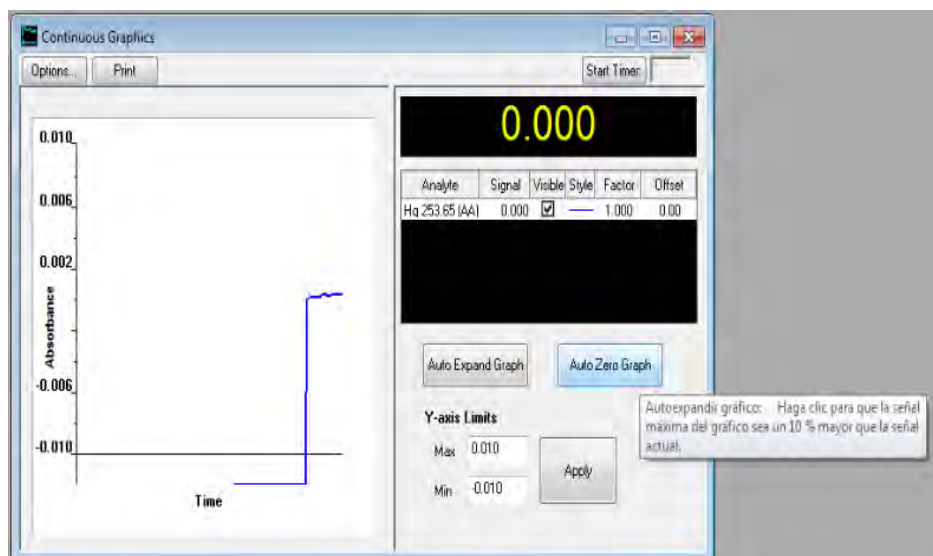


FIGURA 9.9.1 Pantalla gráfica de señal contra tiempo con auto cero.

10.0 Encendido de la Celda



Para encender la celda se da clic en el botón *Fias control* y aparecerá la ventana para poder encender la celda y que llegue a la temperatura requerida para que los átomos lleguen a estado basal (Figura 10.0)

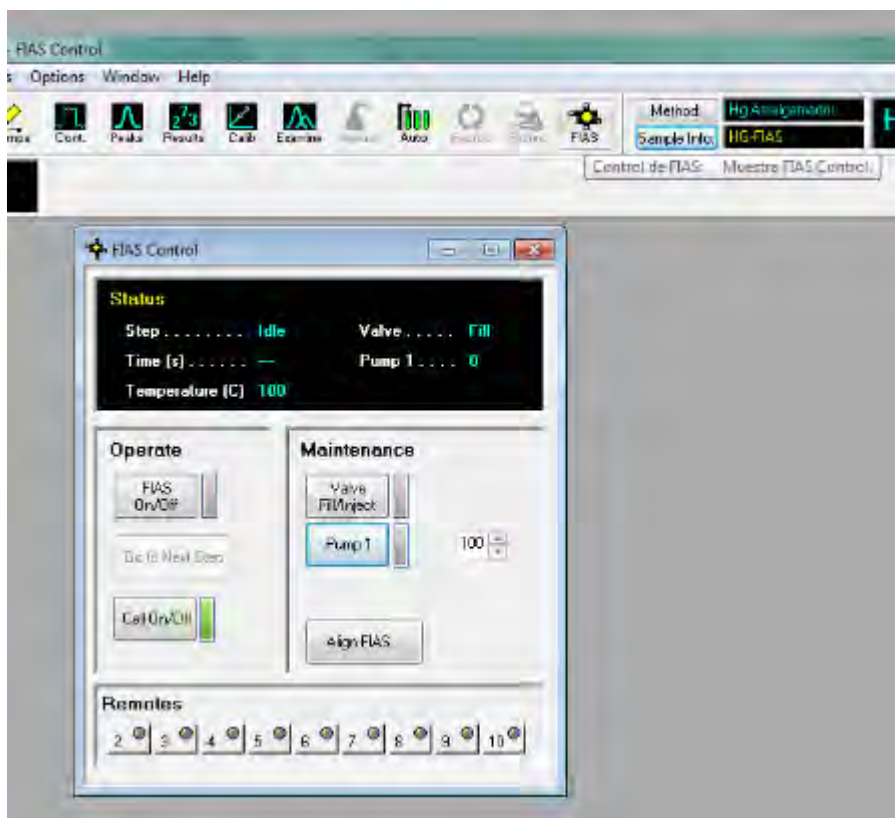


FIGURA 10.0 Controlador del FIAS

10.1 Visualización de Resultados

Para visualizar los resultados inmediatamente se da clic en el ícono *Results*



y aparece una pantalla con la información de la muestra e información del resultado de cada réplica pedida y un promedio.

También se puede observar gráficamente si se presiona el ícono *Examine*.



10.2 Reporte en Data Manager

Para reportar se abre el software **Data Manager** como muestra la (Figura10.2)Se da clic en **File→Utilities→Data Manager**

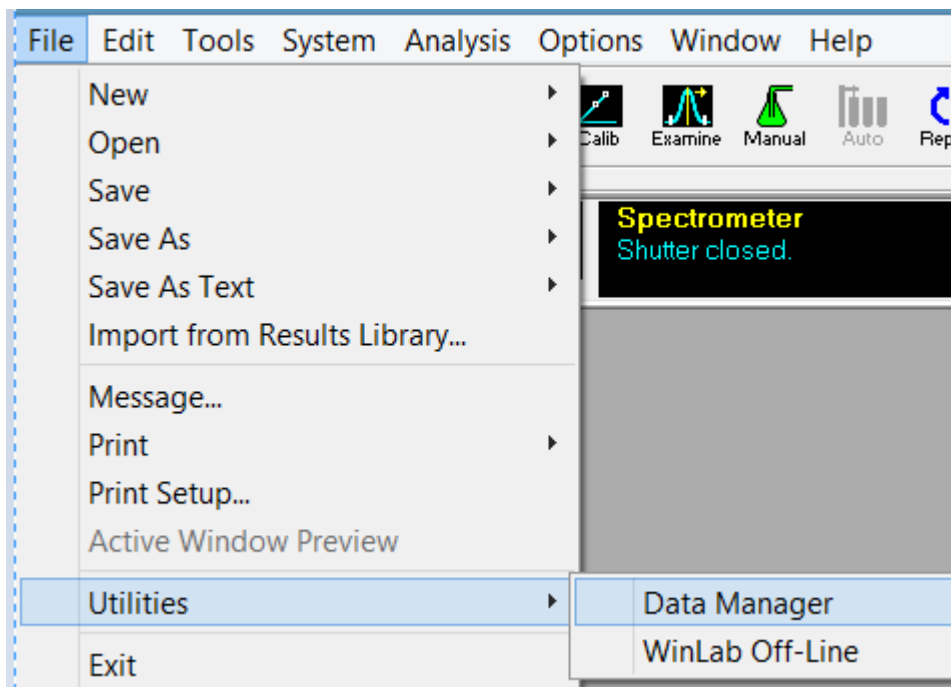



FIGURA 10.2 Cómo abrir Data Manager desde Winlab.

En Data manager se selecciona el archivo de resultados que se desee reportar y

se da clic en el botón  *Report* y aparecerá un instructivo donde se selecciona los parámetros y detalles que se quieren incluir en el reporte (Figura 10.2.1).El diseño del reporte se puede guardar para posteriormente ser utilizado o modificado.

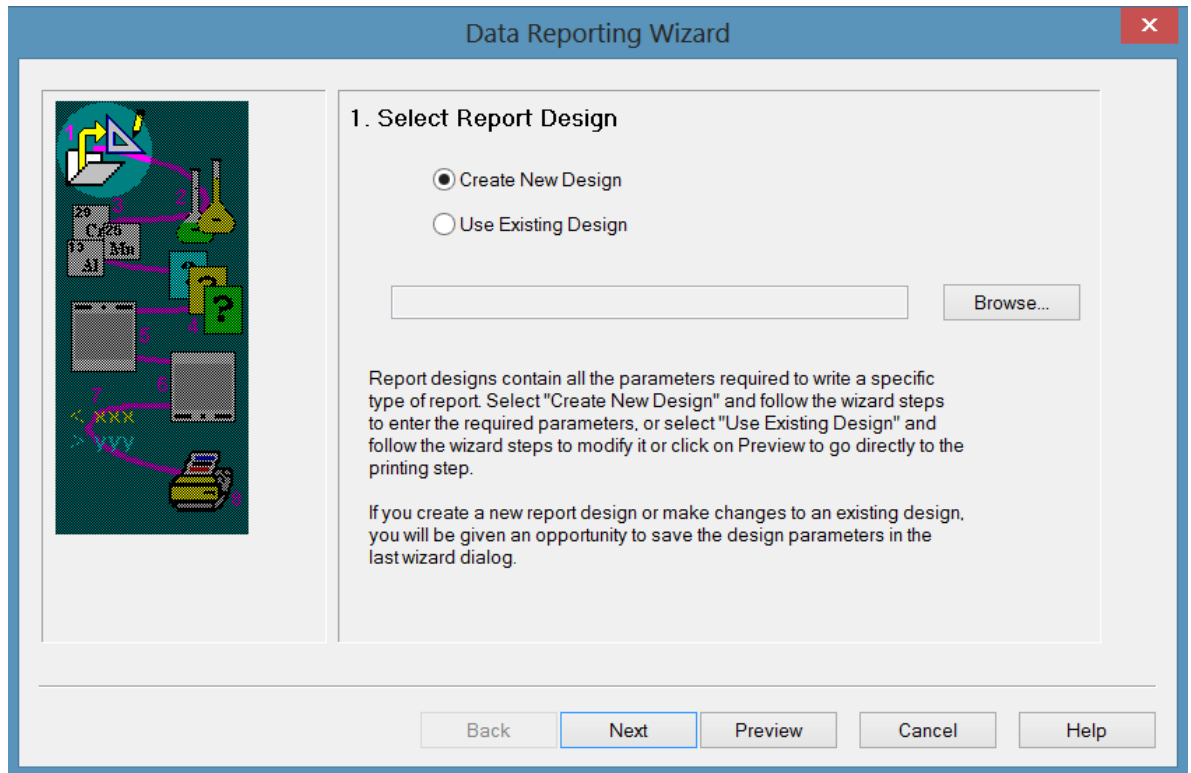


FIGURA 10.2.1 Instructivo para generar un Reporte

Posteriormente le damos clic en Next a las siguientes opciones y se manda a imprimir el reporte que se desee sencillo o detallado (Figura 10.2.2).

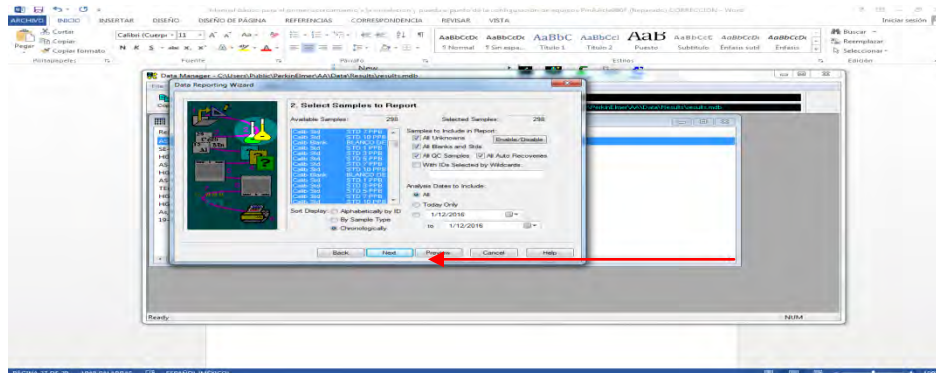


FIGURA 10.2.2 Ejemplo de opciones, que se dan clic a Next.

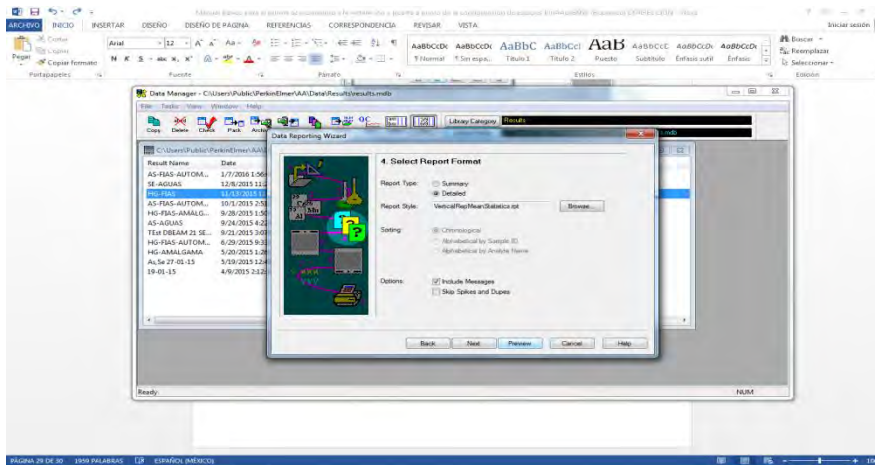


FIGURA 10.2.3 Ejemplo para Generar un Reporte Detallado.

Se da clic en preview y aparece el reporte detallado, listo para imprimir (Figura 10.2.3).

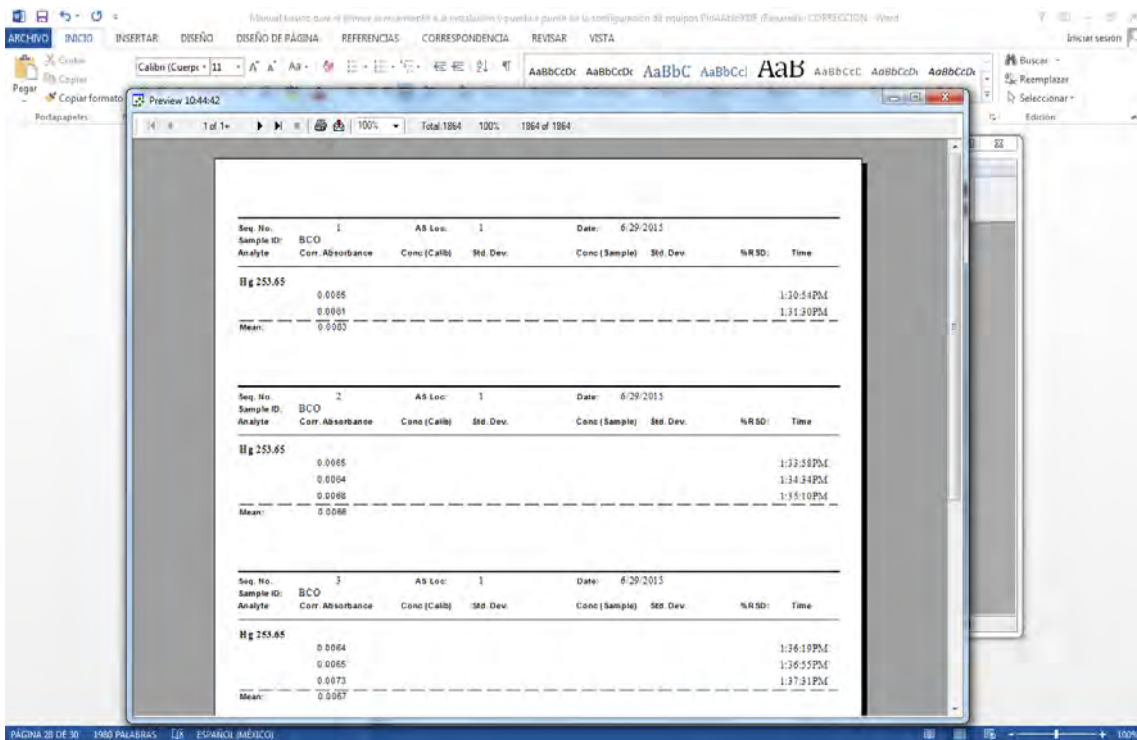


FIGURA 10.2.4 Ejemplo de Reporte Detallado.

