

**EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE MERCURIO TOTAL EN AGUAS, SUELOS
Y SEDIMENTOS DEL RIO SURATÁ, UTILIZANDO UN SISTEMA PARA
ANÁLISIS DIRECTO DE MERCURIO**

CESAR AUGUSTO BERNAL

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
MAESTRÍA EN QUÍMICA AMBIENTAL
BUCARAMANGA**

2013

**EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE MERCURIO TOTAL EN AGUAS, SUELOS
Y SEDIMENTOS DEL RIO SURATÁ, UTILIZANDO UN SISTEMA PARA
ANÁLISIS DIRECTO DE MERCURIO**

CESAR AUGUSTO BERNAL

**Trabajo de aplicación para optar el título de
Magíster en Química Ambiental**

DIRECTORA

Dra. JANETH AIDÉ PEREA VILLAMIL

CODIRECTOR

Qca. ROSA MARIA HIGUERA ARDILA-CDMB

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE QUÍMICA

MAESTRÍA EN QUÍMICA AMBIENTAL

BUCARAMANGA

2013

DEDICATORIA

*Dedico este trabajo a Dios por la vida y las bendiciones,
A la Santísima Virgen María quien intercede por mi ante nuestro señor Jesucristo,
A mi hermano quien me guía desde el cielo,
A mi familia por su infinito apoyo en especial a mis abuelos Maternos quienes
han dado todo para que yo alcance mis metas,
A mi novia por el apoyo, la comprensión, el amor y el cariño recibido durante esta
etapa de mi vida.*

Cesar Augusto Bernal

AGRADECIMIENTOS

Inicialmente quiero agradecer a Dios, pues sin él, nada sería concebido.

Al personal del Laboratorio de Aguas y Suelos de la CDMB en especial a mi codirectora Rosa Maria Higuera por su confianza y amistad.

A la Dra. Aide Perea por su apoyo incondicional

A mis abuelos Pastora Bernal y Juan Blanco quienes son mi fortaleza desde el primer día de mi vida, LOS AMO.

A mis familiares quienes siempre estuvieron ahí para darme un aliento.

A Jorge Ardila quien más que un amigo es un hermano.

A mis amigos que me apoyaron en esta etapa.

A la Universidad Industrial de Santander en especial a Elizabeth secretaria de la maestría quien siempre tuvo una solución a nuestros problemas.

A Laura Aguilar, Esperanza Torres y TIP Ltda por permitirme los cambios de turno para realizar esta tesis.

GRACIAS!

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCION.....	16
1. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE.....	17
1.1 El mercurio.....	17
1.1.1 Fuentes de liberación de mercurio.....	17
1.1.2. Toxicología del mercurio.....	18
1.1.2.1 Mercurio metálico.....	19
1.1.2.2 Mercurio inorgánico.....	20
1.1.2.3 Compuestos orgánicos de mercurio.....	22
1.2 Río Suratá.....	23
1.4 Métodos de análisis de mercurio.....	25
1.5 Validación de técnicas analíticas.....	26
1.6 Incertidumbre en las medidas analíticas.....	28
1.7 Remoción de mercurio.....	29
1.7.1 Generalidades.....	29
1.7.2 Técnicas usadas para la remoción de mercurio.....	31
1.7.3 Biorremediación.....	32
1.7.3.1 Biorremediación por microorganismos unicelulares.....	33
1.7.3.2 Fitorremediación.....	34
2. DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	37
2.1 DISEÑO METODOLOGICO.....	37
2.2 PREVALIDACIÓN.....	37
2.2.1 Verificación de procedimiento.....	38
2.2.1.1 Mercurio total en aguas.....	38
2.2.1.2 Mercurio total en suelos.....	38
2.2.1.3 Mercurio total en sedimentos.....	38
2.2.2 Verificación de patrones y reactivos.....	39
2.2.2.1 Reactivos.....	39
2.2.3 Verificación de equipos.....	40
2.2.3.1 Analizador de mercurio.....	40

2.2.3.2 Balanza analítica.....	40
2.2.3.3 Estufa de secado	40
2.2.3.4 Mufla	40
2.2.4 Verificación de material volumétrico	40
2.2.4.1 Protocolo de lavado y secado de material volumétrico	41
2.3 VALIDACIÓN	41
2.3.1 Curva de calibración	41
2.3.1.1 Rango bajo.....	41
2.3.1.2 Rango alto.....	42
2.3.2 Intervalo de validación	42
2.3.2.1 Rango bajo.....	42
2.3.1.2 Rango alto.....	42
2.3.3 Linealidad.....	43
2.3.4 Diseño experimental	43
2.3.5 Descripción de cada lote.....	44
2.3.6 Mínima concentración detectable	45
2.3.7 Mínima concentración cuantificable	45
2.3.8 Sensibilidad del método	45
2.3.9 Precisión	45
2.3.10 Exactitud	45
2.3.11 Carta de control	46
2.3.11.1 Carta de control aguas.....	46
2.3.11.2 Carta de control suelos	46
2.3.11.3 Carta de control sedimentos	46
2.3.12 Estimación de incertidumbre.....	46
2.3.12.1 Identificación de las fuentes individuales mercurio en aguas.....	46
2.4 MUESTREO.....	48
2.4.1 Aguas	48
2.4.2 Suelos.....	48
2.4.3 Sedimentos	50

2.5 EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE MERCURIO TOTAL.....	50
3 RESULTADOS Y DISCUSION	51
3.1.2 Intervalo de validación	53
3.1.3 Linealidad.....	54
3.1.4 Diseño experimental	56
3.1.5 Mínima concentración detectable	59
3.1.6 Mínima concentración cuantificable	59
3.1.7 Sensibilidad del método	60
3.1.8 Precisión	60
3.1.9 Exactitud	61
3.1.10 CARTA DE CONTROL	61
3.1.10.1 Carta de control aguas.....	61
3.1.10.2 Carta de control suelos	62
3.1.10.3 Carta de control sedimentos	63
3.2 Estimación de incertidumbre.....	64
3.2.1 Estimación incertidumbre mercurio total en aguas rango bajo.....	64
3.2.2 Estimación incertidumbre mercurio total en aguas rango alto.....	74
3.2.3 Estimación incertidumbre mercurio total en suelos rango bajo	77
3.2.4 Estimación incertidumbre mercurio total en suelos rango alto	81
3.2.5 Estimación incertidumbre mercurio total en sedimentos rango bajo	84
3.2.6 Estimación incertidumbre mercurio total en sedimentos rango alto	87
3.3 MUESTREO.....	90
3.4 EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE MERCURIO TOTAL.....	92
3.4.1 Mercurio total en el río Suratá y sus confluencias.....	92
3.4.2 Mercurio total en sedimentos del río Suratá y sus confluencias.....	94
3.4.3 Mercurio total en suelos aledaños al río Suratá y sus confluencias	96
4. CONCLUSIONES	100
5. RECOMENDACIONES.....	102
6. BIBLIOGRAFÍA.....	103
7.ANEXO	109

LISTA DE TABLAS

Tabla 3.1 Datos obtenidos para la construcción de la curva de calibración de bajas concentraciones.....	51
Tabla 3. 2 Datos obtenidos para la construcción de la curva de calibración de concentraciones altas	52
Tabla 3. 3 Diseño experimental realizado para la validación de Hg.....	57
Tabla 3. 4 Determinaciones de Hg realizadas para el cálculo de repetibilidad de la mínima concentración cuantificable	59
Tabla 3.5 Diseño experimental elaborado para la curva de calibración (Eurachem/CITAC, 2012).	71
Tabla 3. 6. Puntos de muestreo seleccionados para la toma de muestras	91
Tabla 3.7 Valores de RPD máximos permitidos.....	92
Tabla 3.8 Concentración de mercurio en las aguas muestreadas	93
Tabla 3.9 Concentración de mercurio en los sedimentos muestreados.....	95
Tabla 3. 10 Concentración de mercurio en los suelos muestreados.....	97
Tabla 3. 11 Concentraciones de mercurio en suelos no contaminados (Muñoz, 2006).....	99

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Principales afluentes del Rio Suratá (Adaptado de Wolff, 2001)	24
Figura 2 Equipo de descomposición térmica Hydra-C (adaptado manual Hydra C)	26
Figura 2.1 Diagrama causa y efecto para estimación de incertidumbre Hg en aguas	47
Figura 2.2 Diagrama causa y efecto para estimación de incertidumbre Hg en suelos.	47
Figura 2. 3 Diagrama causa y efecto para estimación de incertidumbre Hg en sedimentos.....	48
Figura 2.4 Fotografía de la toma de las muestras de suelo	49
Figura 2.5 Fotografía que representa el cuarteo de la muestra de suelo.....	49
Figura 3. 1 Curva de calibración de Hg total para el rango bajo	52
Figura 3.2 Curva de calibración de Hg total para el rango alto	53
Figura 3. 3 Gráfica de residuos para la curva de calibración de rango bajo	55
Figura 3. 4 Gráfico de residuos para la curva de calibración de rango alto	56
Figura 3. 5 Carta de control analítico para la determinación de Hg en aguas	62
Figura 3. 6 Carta de control analítico para la determinación de Hg en suelos.....	63
Figura 3. 7 Carta de control analítico para la determinación de Hg en sedimentos	64
Figura 3.8 Puntos seleccionados para la toma de muestras (Adaptado de WOLFF, 2001).....	91
Figura 3.9 Diagrama de barras que representa la concentración de Hg en los diferentes puntos de muestreo.....	79
Figura 3. 10 Diagrama de barras que representa la concentración de Hg en los diferentes puntos de muestreo.....	80
Figura 3. 11 Diagrama de barras que representa la concentración de Hg en los diferentes puntos de muestreo.....	98

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A.....	109
--------------	-----

LISTA DE ABREVIATURAS

A₁	Muestra de agua natural 1
A₁ + D₁	Muestra de Agua dopada 1
Abs	Absorbancia
AMB	Acueducto Metropolitano de Bucaramanga
BK₁	Blanco 1
CV	Coeficiente De Variación
CDMB	Corporación de Defensa de la Meseta de Bucaramanga
E₁	Solución Estándar 1
EPA	Environmental Protection Agency
HG-AAS	Determinación de Mercurio por Absorción Atómica
ICP	Instituto Colombiano del Petroleo
IDEAM	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales
ISO	International Organization for Standardization
MCC	Mínima Concentración Cuantificable
MCD	Mínima Concentración Detectable
NADPH	Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate
OMS	Organización Mundial de la Salud
ppb	Partes por Billón
R₁	Solución de Referencia 1
RPD	Porcentaje de Diferencia Relativa
SD	Satandard Desviation
Se₁	Muestra de Sedimento 1
Se₁ + D₁	Muestra dopada de Sedimento 1
Su₁	Muestra de Suelo 1
Su₁ + D₁	Muestra dopada de Suelo 1
U	Incertidumbre Estándar
U_c	Incertidumbre Combinada
U_{ER}	Incertidumbre Estándar Relativa

RESUMEN

TITULO: EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE MERCURIO TOTAL EN AGUAS, SUELOS Y SEDIMENTOS DEL RIO SURATÁ, UTILIZANDO UN SISTEMA PARA ANALISIS DIRECTO DE MERCURIO*

AUTOR: BERNAL Cesar Augusto

PALABRAS CLAVES: Mercurio total, Validación, Aguas, Suelos, Sedimentos, Rio Surata.

DESCRIPCIÓN

En este trabajo de aplicación se llevó a cabo la evaluación del contenido de mercurio total en aguas, suelos y sedimentos del rio Surata, empleando un sistema de analisis directo de mercurio total el cual fue validado al interior del laboratorio de aguas y suelos de la CDMB, encontrándose que el mercurio en las aguas superficiales del río Surata y sus confluencias Vetás, Charta y Tona, se encuentran dentro del criterio establecido en los artículos 38 y 39 del Decreto 1594/84 del Ministerio de Salud, donde se establece 2.0 µg Hg/L como criterio de calidad admisible para la destinación del recurso para consumo humano y doméstico, previo tratamiento convencional, artículo 41 del Decreto 1594/84 donde se establece 10 µg Hg/L como criterio de calidad admisible para la destinación del recurso para uso pecuario. Los suelos aledaños al rio Surata se encuentran dentro de los niveles de suelos no contaminados de acuerdo a los resultados reportados en la literatura. Los sedimentos en los puntos SA-03, RT-01, RCH-01, SA-RT-01 y SA-06 se encuentran libres de contaminación, el punto SA-05 tiene un nivel de contaminación tolerable por la mayoría de los organismos que viven en los sedimentos y los puntos SA-PtePaneca y RV-01 son sedimentos contaminados, según Canadian Sediment Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life, Ontario, 2002.

* Tesis de maestría

** Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias, Escuela de Química, Director: PEREA, J. Co-director: HIGUERA, R.

ABSTRACT

TITLE: EVALUATION OF THE CONTENT OF TOTAL MERCURY IN WATERS, SOILS AND SEDIMENTS OF THE RIVER SURATÁ, USING A SYSTEM FOR DIRECT ANALYSIS OF MERCURY

AUTHOR: BERNAL Cesar Augusto

KEYWORDS: Total Mercury, Validation, Waters, Soils, Sediments, Rio Suratá.

DESCRIPTION

In this work of application there was carried out the evaluation of the content of total mercury in waters, soils and sediments of the river Suratá, using a system of direct analysis of total mercury which was validated to the interior of the water laboratory and soils of the CDMB, thinking that the mercury in the superficial waters of the river Suratá and his confluences Seams, Charta and Tona, are inside the criterion established in the articles 38 and 39 of the Decree 1594/84 of the Department of Health, where Hg/L establishes 2.0 µg as criterion of admissible quality for the destination of the resource for human and domestic consumption, previous conventional treatment, article 41 of the Decree 1594/84 where Hg/L establishes 10 µg as criterion of admissible quality for the destination of the resource for cattle use.

The bordering soils to the river Suratá are inside the levels of soils not contaminated with agreement to the results brought in the literature.

The sediments in the points SA-03, RT-01, RCH-01, SA-RT-01 and SA-06 are free of pollution, the point SA-05 has a level of tolerable pollution by the majority of the organisms that live in the sediments and the points SA-PtePaneca and RV-01 are sediments contaminated, according to Canadian Sediment Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life, Ontario, 2002.

*Master Thesis

** Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias, Escuela de Química, Research advisors: PEREA, J.. HIGUERA, R.

INTRODUCCIÓN

En los municipios de Vetás y California ubicados en el Departamento de Santander (Colombia), desde hace muchos años se trabaja la minería en forma artesanal, y producto de estas labores se vierten diariamente al río Suratá desechos contaminados con mercurio y cianuro.

Para el análisis de mercurio en el laboratorio de Aguas y Suelos de la CDMB se ha usado la técnica de absorción atómica con generación de hidruros la cual se encuentra actualmente acreditada ante el IDEAM en la matriz agua. Sin embargo, con el objeto de mejorar la evaluación de los niveles de mercurio en aguas, sedimentos y suelos, la CDMB adquirió un equipo analizador de mercurio Hydra-C, el cual usa la técnica de descomposición térmica EPA 7473 y posterior determinación por absorción atómica. Para su implementación en el análisis de mercurio en aguas, suelos y sedimentos, esta técnica requiere ser validada por el laboratorio.

La validación permite obtener evidencias que confirman la pertinencia de la metodología para el uso previsto. De este modo en el presente proyecto se propone validar el método para la determinación de mercurio en diferentes matrices: aguas, suelos y sedimentos y posterior aplicación en la evaluación de materiales provenientes del Río Suratá con el fin de identificar sitios neurálgicos de contaminación y junto con la CDMB plantear alternativas para disminuir este impacto ambiental.

1. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE

1.1 El mercurio

El mercurio y su principal forma mineral, el cinabrio, fueron conocidos y utilizados desde tiempos remotos. Los primeros asentamientos humanos, pueblos como China, Egipto y Asiria ya conocían la existencia, al menos del cinabrio y su aplicación como pintura en forma de bermellón (polvo de cinabrio) pigmento de color rojo. Los griegos y los romanos también utilizaron el cinabrio como pintura (bermellón) y algunos de sus más renombrados médicos, por ejemplo Hipócrates, lo utilizó en forma de ungüento, por no considerarlo tóxico por vía dérmica **(Cano, 2001)**.

La forma metálica se refina a partir del mineral de sulfuro de mercurio calentando el mineral a temperaturas superiores a los 540 °C. De esta manera se vaporiza el mercurio contenido en el mineral, y luego se captan y enfrían los vapores para formar el mercurio metálico líquido **(Ferreira, 2010)**.

1.1.1 Fuentes de liberación de mercurio

Fuentes naturales: liberaciones debidas a la movilización natural del mercurio tal como se encuentra en la corteza terrestre, como la actividad volcánica o la erosión en las rocas.

Las actuales liberaciones antropógenas (asociadas con la actividad humana) resultantes de la movilización de impurezas de mercurio en materias primas como los combustibles fósiles -en particular el carbón, y en menor medida el gas y el petróleo- y otros minerales extraídos, tratados y reciclados.

El aporte antropogénico de mercurio no solo deriva de la explotación de yacimientos, procesos metalúrgicos e industrias diversas, también proviene de algunas fuentes importantes de liberaciones antropógenas que se producen a raíz de la extracción y el uso intencional del mercurio. Estas fuentes comprenden la producción de barómetros, manómetros, termómetros, esfigmomanómetros, lentes de telescopios, lámparas de difusión y ultravioleta, conmutadores, cátodos de células electrolíticas, turbinas de vapor, metalurgia del oro y plata, amalgamas dentales, productos farmacéuticos, biocidas, fungicidas, pesticidas, pilas, baterías, etc. y la incineración de productos que contienen mercurio; los vertederos y la cremación (**Olivero, 1998**).

En aguas que están situadas en áreas no influenciadas por la industrialización o por mineralizaciones de mercurio, la concentración media es de 50 nanogramos/litro. En regiones próximas a minas de mercurio e industrializadas, se reportan valores entre 400 y 700 nanogramos/litro. En la bahía de Minamata (Japón), coincidiendo con la intoxicación masiva que allí se produjo, se reportaron valores entre 1.600 - 3.600 nanogramos/litro. (**Cano, 2001**).

Exceptuando la anomalía de Japón y si se considera la cifra notificada más elevada y en la hipótesis de que el mercurio no se elimine en la purificación del agua, la ingestión diaria más elevada sería de cerca de 1,4 microgramos/día (suponiendo una ingesta media diaria en adulto de 2 litros de agua). El límite máximo recomendado de mercurio en agua potable es de 1 microgramo/litro (OMS) que permite ingestiones de hasta 2 microgramos/día (**Timaran, 2001**).

1.1.2. Toxicología del mercurio

La toxicidad del mercurio depende de su forma química y, por lo tanto, los síntomas y signos varían según se trate de exposición al mercurio elemental, a los compuestos inorgánicos de mercurio, o a los compuestos orgánicos de mercurio

(en particular los compuestos de alquilmercurio como sales de metilmercurio, etilmercurio, y dimetilmercurio).

Desde este punto de vista las propiedades químicas e interacciones biológicas de importancia son las siguientes:

1.1.2.1 Mercurio metálico

El mercurio metálico (mercurio líquido, el mercurio, hidrargiro (de ahí Hg), el mercurio elemental), es un metal blanco plateado que se funde a $-38,7^{\circ}\text{C}$. Es el más conocido como un metal líquido, que tiene una presión de vapor (una medida de la cantidad de vapor 'desprendido') de 0,002 mm de Hg a 25°C . Este valor prácticamente se duplica por cada aumento de 10°C , por lo que el calentamiento del mercurio metálico aumenta en gran medida los riesgos asociados, como la inhalación, siendo esta, la habitual ruta de exposición al mercurio. Inhalado como vapor de mercurio ésta sustancia se acumula en diversos tejidos, en particular en el sistema nervioso central, sitio en el cual sus acciones tóxicas son más importantes.

Por vía oral se ingiere mercurio elemental, pero rara vez causa efectos tóxicos agudos, porque la absorción gastrointestinal es baja: menos del 0,01% de la dosis. **(Borrimann, et al, 1970)**. A efectos prácticos, la ingestión de mercurio elemental por vía oral en una sola dosis representa un riesgo insignificante de toxicidad severa. El LD_{10} oral por ejemplo es de 1429 mg/kg (en el hombre), o aproximadamente 100 g para un adulto de 70 kg. La absorción percutánea también es baja (aproximadamente 2% de la tasa de captación por el pulmón). **(Hursh, et al, 1989)**.

La toxicidad de vapor de mercurio es dependiente de la dosis. Los pacientes expuestos al principio pueden quejarse de un sabor metálico. De tres a cinco

horas después de una alta exposición aguda, se puede desarrollar tos, disnea, opresión en el pecho, letargo, inquietud, fiebre y signos de neumonía. Si los niveles de exposición son suficientes, y, sobre todo cuando la acumulación se produce después de exposiciones repetidas, surgen síntomas relacionados con alteración del sistema nervioso central, como temblor, y eretismo (trastornos de la conducta) **(Von Berg, 1995)**. Trastornos vasomotores también puede ocurrir con un exceso de transpiración y rubor. Otros cambios incluyen úlceras orales, sangrado de las encías y el aflojamiento de los dientes.

La intoxicación crónica afecta marcadamente el sistema nervioso central y los riñones. Inicialmente se refleja un temblor involuntario en los músculos faciales y los párpados y poco a poco se vuelve más pronunciado y comienza a afectar a las extremidades. La escritura a mano se convierte en ilegible, con omisión de letras y palabras enteras con el tiempo; el eretismo se manifiesta como la timidez excesiva, la pérdida de confianza, vagos temores, irritabilidad, inseguridad, y la melancolía suicida. El paciente se vuelve incapaz de realizar tareas sencillas como vestirse. Problemas renales son relativamente raros teniendo en cuenta que la principal vía de eliminación es a través de los riñones. **(Petering, et al, 1976)**. Los más comunes son los signos de la proteinuria, que refleja el daño glomerular. Con altas dosis se puede desarrollar el síndrome nefrótico franco, que se ha visto tanto en la industria como en la medicina **(Barr, et al, 1972)**. **(Kibukamusikeet al, 1974)**.

1.1.2.2 Mercurio inorgánico

La toxicidad de las sales de mercurio varía con su solubilidad. Por lo general, los compuestos de mercurio (I) son de baja solubilidad y significativamente menos tóxicos que los compuestos de mercurio (II). Las sales inorgánicas de mercurio presentan un peligro mucho mayor que el mercurio elemental si se ingieren por vía oral, debido a su mayor solubilidad en agua **(Friberg et al, 1973)**. Para cloruro de

mercurio (II), la dosis letal puede ser tan pequeña como 0,5 g, en comparación con 100 g de mercurio metálico.

Las sales de mercurio son generalmente sólidos no volátiles, por lo que el envenenamiento por inhalación es raro, aunque la toxicidad puede surgir si los aerosoles se depositan en los pulmones. Una vez absorbidos, el mercurio (I) fácilmente reacciona con los grupos tiol de aminoácidos tales como cisteína. La proteína metalotioneína, funciona como un quelante natural, en la prevención de daños por el mercurio y otros metales de transición en las proteínas que contienen tiol. Una vez que las proteínas metalotioneína están saturadas, otras proteínas relacionadas estructuralmente pueden ser dañadas. Las sales inorgánicas de mercurio no son solubles en lípidos, por lo que no atraviesan la barrera hematoencefálica en cantidades significativas. La mayoría de la dosis de una sal de mercurio inorgánico ingerido se acumula ya sea en el hígado, donde se excreta en la bilis, o en el riñón, donde se excreta en la orina.

Los síntomas y signos de intoxicación con mercurio inorgánico surgen en dos fases. Muy pronto después de la ingestión, hay un dolor quemante en el pecho, decoloración rápida de las membranas mucosas (secundaria a la precipitación de las proteínas en el revestimiento de la mucosa), y dolor gastrointestinal. No puede haber vómitos y diarrea profusa con sangre lo que puede ocurrir en casos extremos, llevar a un shock hipovolémico y la muerte. Si el paciente sobrevive a los primeros efectos del veneno, los efectos sistémicos predominantes son estomatitis (glositis, hipersalivación, gingivitis ulcerosa, y un sabor metálico), el aflojamiento de los dientes, y el daño renal.

La intoxicación crónica de mercurio inorgánico ocurre a menudo en combinación con el envenenamiento por mercurio elemental, donde los efectos del sistema nervioso central predominan.

La intoxicación crónica de mercurio inorgánico como sal pura es poco frecuente. Sus síntomas, aunque se han descrito anteriormente en los niños como "la enfermedad rosa" o acrodinia formalmente fue atribuido en 1951 a los compuestos inorgánicos de mercurio **(Warkany, 1951)**.

1.1.2.3 Compuestos orgánicos de mercurio

Los compuestos orgánicos de mercurio constituyen una causa importante de intoxicación. Los brotes se han producido en masa en todo el mundo, ya sea inadvertidamente secundaria a la contaminación, o por la ingestión directa de los compuestos orgánicos de mercurio. En el mundo desarrollado, la exposición es más comúnmente a través de la cadena alimentaria acuática, donde los microorganismos convierten el mercurio elemental a compuestos orgánicos de mercurio antes de ser comidos por los más grandes invertebrados y así sucesivamente por toda la cadena alimenticia, que termina con el hombre **(Langford y Ferrer, 1999)**.

Los compuestos orgánicos de mercurio son solubles en lípidos: 90-100% de una dosis oral se absorbe. Sin embargo, la distribución exacta dentro del cuerpo es incierta **(Winship, 1986)**. La intoxicación genera daños específicos en el cerebelo y la corteza visual. La excreción de los compuestos orgánicos de mercurio se encuentra inicialmente en la bilis a través del hígado. Sin embargo se someten a recirculación enterohepática, que conduce a la reabsorción y la absorción en las células rojas de la sangre donde son metabolizados, formando sales inorgánicas y seguir vías previamente discutidos.

La toxicidad generada por exposición a mercurio orgánico puede ser retrasada por semanas o meses, con predominantes efectos gastrointestinales y sobre el sistema nervioso central. Los efectos gastrointestinales incluyen náuseas, vómitos y dolor abdominal; las dosis más altas pueden causar diarrea y una colitis relacionada con la exposición. Otros síntomas son la decoloración de las encías

(similares a la intoxicación con compuestos inorgánicos), sialorrea y parestesias periorales. Efectos nerviosos centrales después de la exposición leve incluyen entumecimiento en las extremidades, como el nivel de exposición aumenta, hay temblores, ataxia, disartria, y constricciones del campo visual **(Satoh, 1981)**.

1.2 Río Suratá

Con un área aferente de 689 km², el río Suratá nace en el páramo de Monsalve y discurre en dirección Noreste-Suroeste por el estrecho cañón de las cuchillas de Magueyes y del Común para desembocar en el Río de Oro. Sus principales afluentes son los ríos Vetas, Charta y Tona(Figura 1), siendo este último el mayor aportante en área y caudal. La pendiente media del cauce es del 3,72% y su longitud es de 59,6 km hasta el puente de la fábrica de cementos al norte de la ciudad de Bucaramanga **(AMB, 2012)**.

Se reconocen las aguas del Suratá en sus cabeceras como aptas para uso humano; en las riberas de las quebradas Angosturas, Páez y La Baja (en California) al igual que El Volcán, El Salado y Río Vetas (en Vetas), en estas fuentes hídricas históricamente se ha desarrollado minería aurífera de filón, y los productos de desecho del procesamiento del mineral aurífero (mercurio y cianuro) son arrojados directa ó indirectamente a las corrientes hídricas circundantes; las cuales finalmente entregan sus aguas al río Suratá (Figura 1).

La CDMB tiene establecidos en el río Suratá 5 puntos de monitoreo, que van desde el punto SA-07 ubicado en la Estación conocida como Uña de gato, aguas arriba del municipio Suratá, SA-06 Estación Puente Panega, SA- 05 Estación La Playa, SA-03 Estación Bosconia y SA-01 Estación Bavaria. Siendo el tramo ubicado entre los puntos SA-07 al punto SA-03 de interés para el desarrollo del presente trabajo.

Adicionalmente, en los puntos SA-05, SA-03 y SA-01 se realizan también análisis de cianuro y mercurio, encontrándose en el punto SA-03 concentraciones de 0.015 mg/L de Cianuro y 0.6 µg/L de Mercurio, valores que están por debajo de los máximos permisibles por el Decreto 1594 de 1984 para captación de agua potable (0.2 mg/L para Cianuro y 2 µg/L para el Mercurio), así mismo el punto SA-01, presenta valores de 0.75 µg/L para Mercurio y 0.015 mg-CN/L para Cianuro, (CDMB, 2010).

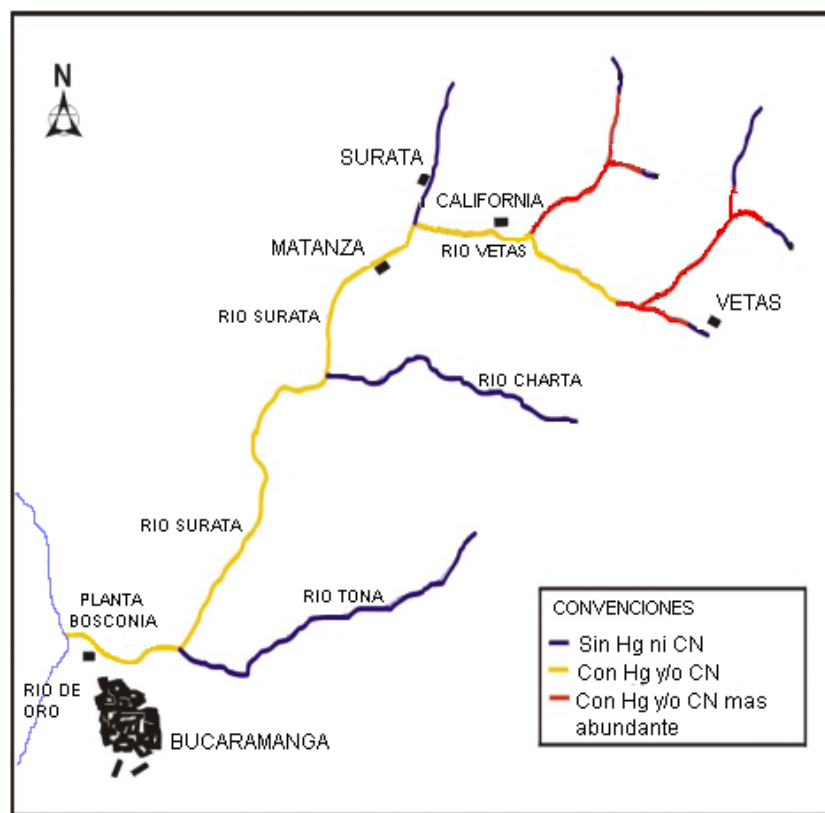


Figura 1 Principales afluentes del Río Suratá (Adaptado de Wolff, 2001)

1.3 Extracción pequeña minería o minería artesanal

En los municipios de Vetás y California las minas de oro constituyen una de las riquezas naturales más importantes, pero la tecnología tradicionalmente empleada

para la recuperación de las partículas finas de este metal se ha basado en la molienda del material rocoso seguida de la formación de una amalgama con mercurio, que por tener un peso específico mayor que el oro, puede ser recuperado manualmente. El paso siguiente del proceso involucra la separación del Hg por medio del calor, lo que provoca la volatilización del metal pesado. Para prevenir la volatilización del mercurio, en ocasiones es empleando la retorta, un equipo usado para el quemado de la amalgama (mercurio-oro) que permite recuperar por condensación un alto porcentaje del mercurio evaporado evitando así la emisión de sus vapores al medio ambiente.

En el proceso de amalgamiento siempre es utilizado un exceso de Hg, el exceso del metal pesado se pierde como pequeñas gotas y pasa a contaminar los suelos y los ríos, donde las colas de molino son depositadas, produciendo los llamados puntos críticos. Asimismo, el Hg volatilizado regresa al suelo por la acción del agua de lluvia y la asociación del metal pesado con las partículas más finas hace que la erosión hídrica o eólica contribuya a su dispersión en el ambiente **(Lacerda y Salomons, 1992)**.

1.4 Métodos de análisis de mercurio

Existen numerosos métodos para la determinación de mercurio, pero en general los métodos de rutina para su determinación en aguas, sedimentos y suelos son en alguna medida tediosos y consumen exceso de tiempo debido al tratamiento previo de la muestra donde se puede perder mercurio por su alta volatilidad y donde se puede generar la contaminación de la misma.

Como una alternativa apropiada, el mercurio total puede ser medido directamente en matrices sólidas o líquidas a través del uso de instrumentos automatizados comerciales. Estos sistemas integran la combustión de la muestra seguida de la

determinación por espectrofotometría por absorción atómica. Dentro de estos se encuentra el Equipo de descomposición térmica HYDRA-C, el cual es específico para realizar análisis de mercurio en líquidos y sólidos, y cumple con los requerimientos técnicos de la norma US EPA método 7473.

El instrumento está basado en la generación de mercurio elemental por la descomposición térmica de la muestra; los vapores generados son preconcentrados en una trampa de oro para analizarlos en el módulo óptico. Permite la estimación de límites de detección en torno de 0,005 ng y dispone de una segunda celda de 2,5 cm de paso óptico colocada entre la celda anterior y el detector para proveer un rango dinámico extendido que le permite analizar muestras con hasta 20.000 ng de mercurio (Figura 2).

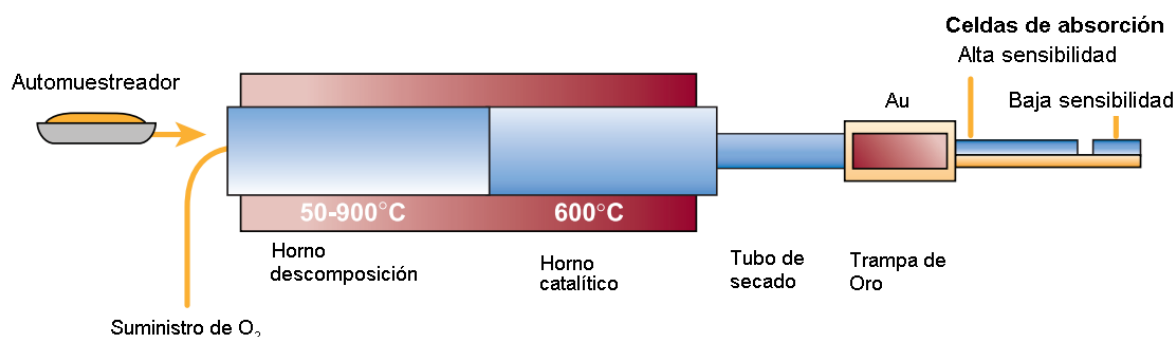


Figura 2 Equipo de descomposición térmica Hydra-C (adaptado manual Hydra C)

1.5 Validación de técnicas analíticas

La validación es la 'Confirmación mediante examen y suministro de evidencia objetiva de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto' (**ISO 8402, 1994, ISO 17025**). La validación es una de las medidas reconocidas como parte necesaria de un sistema integral de garantía de la calidad en el ámbito de la química analítica.

Diversas organizaciones internacionales han colaborado en la elaboración de protocolos sobre diseño, organización e interpretación de estudios de funcionamiento de métodos para la validación de técnicas de análisis por un laboratorio pero dichos protocolos no son de obligatoria aplicación debido a la autonomía que cada país posee para desarrollar sus políticas de calidad **(Castillo, 1996)**.

Según la guía EURACHEM **(EUROCHEM/CITAC, 2002)** un método debe validarse cuando sea necesario verificar que sus parámetros de desempeño son adecuados para el uso en un problema analítico específico. Por ejemplo:

- Un nuevo método desarrollado para un problema específico;
- Un método ya establecido revisado para incorporar mejoras o extenderlo a un nuevo problema;
- Cuando el control de calidad indica que un método ya establecido está cambiando con el tiempo;
- Un método establecido usado en un laboratorio diferente o con diferentes analistas o con diferente instrumentación;
- Para demostrar la equivalencia entre dos métodos, por ejemplo, entre un método nuevo y uno de referencia.

Bajo este contexto en la validación de un método analítico deben evaluarse las siguientes Figuras de mérito: Límite de detección, límite de cuantificación, rango lineal, rango del método, sensibilidad, precisión y exactitud, cuyas definiciones están ampliamente establecidas en **(Standard methods, 2012) (EUROCHEM/CITAC, 2002)**.

A nivel nacional numerosos laboratorios cuentan con metodologías validadas para la determinación de mercurio total en aguas, sin embargo, en matrices sólidas, el laboratorio microbiológico de Barranquilla Ltda es el único laboratorio que tiene

acreditado ante el IDEAM y por ende validado el método para la cuantificación de mercurio total en suelos y sedimentos, basado en el ChemicalMethods Manual forFish and Sea foods, Sediments -Canadian FoodInspection Agency Amend No. 412/02 de 1999, mediante la técnica Espectrofotometría de Absorción Atómica Vapor Frío, SM 3112 B.

El Instituto Colombiano de Petróleos ICP tiene acreditado el método para determinación de mercurio en suelos usando la técnica Espectrofotometría de Absorción Atómica – Vapor frío, basado en la norma EPA 245.5 revisión 3 febrero de 2001 y EPA 7471 A, revisión 1 septiembre 1994.

Un estudio de la Universidad industrial de Santander determinó el contenido de mercurio en 26 muestras superficiales de suelos recolectadas a partir de algunas áreas verdes y parques de la ciudad de Bucaramanga, con el fin de observar la distribución del mercurio en el ambiente urbano e identificar posibles fuentes de contaminación. Para las mediciones se utilizó un espectrofotómetro de absorción atómica diferencial de Zeeman acoplado a un dispositivo de pirolisis **(Muñoz, 2006)**.

1.6 Incertidumbre en las medidas analíticas

En la búsqueda de resultados confiables los analistas descubren que una muestra analizada un numero definido de veces proporciona diferentes valores aunque cada una de las determinaciones se realice de la misma muestra y bajo condiciones de trabajo idénticas. Los resultados oscilaran dentro de un rango, debido a errores posiblemente cometidos durante el análisis, por lo tanto, las medidas realizadas no serán verdaderas, oscilaran dentro de un rango llamado incertidumbre. Por lo anterior, es necesario identificar cada una de las fuentes de incertidumbre, evaluarlas y finalmente estimar la incertidumbre total del análisis. **(EUROCHEM/CITAC, 2012)**.

Uno de los métodos recomendados para estimar la incertidumbre es mediante el uso del diagrama de Ishikawa o diagrama causa-efecto; que permite determinar las principales fuentes de incertidumbre en una medida de forma individual para finalmente calcular la incertidumbre total mediante la suma de las fuentes estimadas **(EUROCHEM/CITAC, 2012), (Rivas, 2006)**.

1.7 Remoción de mercurio

1.7.1 Generalidades

Todos los metales (en diferentes estados de oxidación) circulan naturalmente por el ambiente e interactúan de forma dinámica con los seres vivos **(Munthe, 2003)**. Muchos metales son considerados esenciales, debido a que su ausencia genera problemas metabólicos que impide el correcto funcionamiento homeostático, en este contexto, durante el desarrollo evolutivo los seres vivos han diseñado diversos mecanismos que permiten introducir dentro de sus estructuras las cantidades necesarias de metales para su correcto funcionamiento**(Fu, 2010)**.

El cadmio, junto con el plomo, arsénico y mercurio (los cuales constituyen una preocupación ambiental), son ‘ácidos débiles’, de Lewis (alta polarizabilidad), con particular afinidad por las ‘bases débiles’, de Lewis, tales como los grupos laterales que contienen azufre en aminoácidos como la cisteína. Por tal motivo, es probable, que los metales pesados ejerzan su efecto tóxico al atacar los residuos de cisteína en proteínas aunque las consecuencias fisiológicas varían de un metal para otro**(Fitzgerald, 1997)**. Este proceso de asimilación de metales permite una efectiva acumulación dentro de los organismos vivos, el proceso es tan efectivo que un aumento en la exposición ambiental genera un aumento interno de la concentración, que en ocasiones supera las necesidades metabólicas, llegando al caso, de superar los niveles deseados hasta generar intoxicación e muerte (Dosis letal)**(Krabbenhoft, 2005)**. Átomos de metales como el mercurio pueden ingresar

a los organismos y alcanzar concentraciones que representan daños metabólicos y fisiológicos para los seres vivos, engañando los sistemas bioquímicos de asimilación de metales esenciales como el manganeso, zinc, cobre, molibdeno, estaño entre otros.

La toxicidad del mercurio para los humanos está asociada casi totalmente a la ingesta de peces; esta fuente representa cerca del 94% de la exposición humana **(HSU-KIM, 2013)**. Las bacterias sulfato reductoras que habitan en sedimentos generan metilmercurio y lo liberan a las aguas, en donde es absorbido por los peces por medio de las aguas que pasan por las agallas o del alimento contaminado. El ion CH_3Hg^+ forma CH_3HgCl en el medio salino de los fluidos biológicos y este compuesto neutro pasa por las membranas biológicas distribuyéndose por todos los tejidos del pez. En los tejidos, el ion cloruro es desplazado por los grupos que contienen azufre en las proteínas. En virtud de la alta afinidad del Hg por los ligantes de azufre. El mercurio, sólo es eliminado lentamente y está, por tanto, sujeto a bioacumulación cuando los peces pequeños son comidos por los peces más grandes **(Wasserman, 2003)**.

La biometilación del Hg ocurre en todos los sedimentos; y los peces de toda parte poseen alguna cantidad de Hg. Los niveles de Hg son elevados en cuerpos de agua en los cuales los sedimentos son contaminados por mercurio, y la concentración aumenta a medida que se avanza en la cadena alimenticia (biomagnificación) **(Nevado, 2003)**. Por tal motivo, los humanos localizados al final de la cadena alimenticia se encuentran expuestos a concentraciones elevadas de Hg al ingerir peces que han bioacumulado Hg del medio en el que se han desarrollado.

En este contexto, surge la necesidad de retirar el mercurio presente en suelos sedimentos y aguas que se encuentren contaminadas con Hg, permitiendo así, la interrupción de la ruta que conduce el Hg hacia los humanos.

1.7.2 Técnicas usadas para la remoción de mercurio

En la literatura se han reportado diversos mecanismos que permiten la remoción de Hg de sedimentos, suelos y aguas, siendo las técnicas que envuelven procesos de biorremediación los más indicados y los que presentan mejor viabilidad técnica y económica(**Rehman, 2008; Wagner-Dobler, 2003**).

La remoción de mercurio de zonas contaminadas es un gran desafío para la gestión ambiental, varios procesos basados en resinas de intercambio iónico han sido reportados. Las principales ventajas de estos procesos es que se puede alcanzar el nivel de “cero” contaminante y las resinas se pueden reutilizar después de la regeneración. En contraparte, estas tecnologías presentan problemas en cuerpos de agua con cantidades elevadas de materia orgánica.

Las técnicas convencionales para la remediación de mercurio usualmente implican procesos de precipitación química, coagulación convencional, adsorción por carbón activado, adsorción por materiales naturales o ósmosis inversa. En breve, se describirán cada una de estas técnicas. En el proceso de coagulación convencional, coagulantes tales como: sulfato de aluminio, policloruro de aluminio, sales de hierro y cal se emplean para la eliminación de mercurio por medio de desestabilización electrostática y posterior formación de coágulos que con aumento de tamaño precipitan, siendo posible de esta forma, retirar los contaminantes dispersos en un cuerpo de agua. Este proceso se puede aplicar cuando el mercurio está presente en altas concentraciones. El principal inconveniente de este procedimiento es que no llega a los niveles deseados de precipitación, quedando así, Hg residual(**Dash, 2012**).

Se han propuesto otras formas para la remediación de efluentes que contienen altas concentraciones de Hg, mediante la formación de complejos con ciclodextrina(**Cathum, 2005**). Con esta metodología es posible extraer grandes cantidades de Hg por decantación de ciclodextrinas que acomplejan átomos de Hg. Esta tecnología es operacionalmente viable debido a que el de reacción es

relativamente corto (algunas horas) y se alcanzan altos niveles de remoción. Por otra parte, los sólidos generados necesitan de tratamientos especiales para su correcta disposición.

El proceso basado en la adsorción por carbón activado es altamente eficiente y el agua se puede reutilizar después de la remoción. Sin embargo, la principal desventaja de este proceso es la absorción lenta del Hg. Es adecuado sólo para bajas concentraciones de mercurio, y los costos de regeneración son altos. Las tecnologías con procesos de adsorción utilizando materiales de desecho naturales son más respetuosos del medio ambiente y económicas, ya que los materiales usados como absorbentes son desechos naturales (bagazos, cascara y aserrines)(**Latifi, 2012**), estos procesos producen menos efluentes secundarios, pero la reacción de adsorción es lenta, implicando tiempos de operación extremadamente prolongados que dificultan el tratamiento de grandes cantidades de material contaminado.

El uso de bacterias para la eliminación de metales de zonas contaminadas es también una tecnología prometedora, al igual que el uso de diversas especies vegetales capaces de bioacumular grandes cantidades de metales en el interior de sus organismos o de liberarlo al ambiente en una forma menos tóxica y menos biodisponible(**Barkay, 2005**). Sin embargo, los inconvenientes en procesos bacterianos o a base de plantas pueden incluir la producción de grandes volúmenes de biomasa contaminados con Hg, cuya eliminación es problemática(**Essa, 2002**).

1.7.3 Biorremediación

El uso de diversos organismos (autótrofos y heterótrofos; unicelulares y pluricelulares), para la biorremediación de cuerpos contaminados con Hg permiten la extracción y bioacumulación de este metal presente en aguas(**Muneer, 2013**)suelos y sedimentos para posteriormente disponer la biomasa generada

(cargada con mercurio) en lugares seguros, fuera del alcance de microorganismos que puedan introducirlo nuevamente a la cadena alimenticia.

1.7.3.1 Biorremediación por microorganismos unicelulares

Diversas especies de microorganismos han sido propuestas como agentes biorremediadores de efluentes contaminados con Hg, debido a la resistencia que presentan para sobrevivir en ambientes contaminados y a la capacidad de absorción con posterior acumulación en sus tejidos o eliminación al ambiente en una forma menos biodisponible(**Johs, 2011**). La idea de retirar el mercurio presente en sedimentos y aguas usando agentes biológicos se basa en el hecho de que existen diversos organismos con capacidad diferenciada para absorber metales dentro de sus tejidos(**Pan-Hou, 2010**). Se ha demostrado la capacidad bioacumulativa de metales pesados en la especie *Rhizopusarrhizus*, esta especie es capaz de absorber hasta 5,8 % de Hg de su peso seco.

Los mecanismos bioquímicos generalmente basados en estudios de ingeniería genética han podido determinar las vías metabólicas mediante las cuales diferentes organismos pueden sobrevivir en ambientes contaminados con Hg(**Barkay, 2003; Kiyono, 2006**). El operónmer, (merA) constituido por 4 genes estructurales, codifica genéticamente las proteínas del sistema enzimático encargado de la reducción intracelular del Hg^{2+} , este sistema enzimático es encargado de almacenar genéticamente la ruta mediante la cual el Hg^{2+} ingresa al microorganismo y posteriormente es liberado en forma de gas (Hg^0) menos tóxico y con menor biodisponibilidad(**Hobman, 1997**). De esta forma, una amplia gama de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas tienen una forma única de resistir en ambientes contaminados con Hg(**Ball, 2007**).

La enzima mercurio reductasa es una flavoproteína y cataliza la reducción dependiente de NADPH de Hg^{2+} a Hg^0 . Dado que el mercurio elemental tiene una alta presión de vapor, se volatiliza y el medio ambiente bacteriano queda libre de mercurio. La expresión del operónmer es minuciosamente controlada por las

proteínas reguladores merC y merD y por la concentración de Hg^{2+} en el interior de la célula, en ausencia de Hg^{2+} el operónmerA es reprimido(Miller, 2010). Por lo tanto, la reducción microbiana de Hg^{2+} representa un recurso para el desarrollo de métodos alternativos de tratamiento de residuos que contienen este metal, que proporcionan ventajas tales como bajo costo de operación y alta eficiencia en la eliminación del mercurio. Se han aislado diferentes microorganismos pertenecientes al género de las *Pseudonomassp*. Este género volatiliza de forma eficiente Hg^{2+} de sedimentos, lodos y suelos contaminados, en condiciones benignas de operación (temperatura entre 37 a 45°C y pH 8,0).

Los avances en ingeniería genética han permitido insertar el gen merA, encargado de la síntesis de la enzima mercurio reductasa, en organismos multicelulares como *AradinopsisThaliana*, otorgándole a esta planta habilidades metabólicas para sobrevivir en ambientes contaminados con mercurio.

1.7.3.2 Fitorremediación

Las plantas son usadas en diferentes procesos de remediación como material extractor de contaminantes orgánico e inorgánico (fitorremediación). El uso de diferentes especies vegetales para la remoción de metales pesados ha permitido la descontaminación de sedimentos y diversos cuerpos de aguas. El avance biotecnológico registrado en los últimos años unido con estudios realizados en ingeniería genética posibilitó el aislamiento, modificación e caracterización de especies capaces de bioacumular mercurio dentro de sus organismos(Nazareno, 2011).

Existe un número amplio de especies vegetales con capacidad para desarrollarse en ambientes contaminados con Hg y con habilidad metabólica para acumular metales pesados en tejidos como raíces y tallos. La acumulación de metales pesados sin ninguna función metabólica, sigue mecanismos bioquímicos similares a los usados para acumular metales esenciales como el Zinc cobre y magnesio. Para mantener la homeostasis interna, las plantas han desarrollado mecanismos

para mantener un equilibrio en las concentraciones de iones metálicos esenciales. Estos mecanismos, le permiten a la planta protegerse de concentraciones excesivas de iones metálicos. Generalmente estos procesos involucran la inmovilización de los iones metálicos en la pared celular de tejidos como raíces y tallos.

Adicionalmente, los procesos de fitorremediación pueden ser mejorados. La capacidad de la planta para extraer metales del suelo puede ser aumentada con la adición de agente quelantes que facilitan, a la planta, la asimilación de nutrientes. Al adicionar una agente quelante al suelo, este forma un complejo con los metales a su alrededor, el metal pasa de un ambiente químico iónico (con baja biodisponibilidad) a un ambiente químico de características orgánicas que aumenta la biodisponibilidad del metal. Otras actividades que aumentan la capacidad bioacumuladora involucran optimización de las prácticas agrícolas como irrigación, fertilización y aprovechamiento de condiciones meteorológicas. La selección de los mejores genotipos y un programa de selección de fenotipos pueden aumentar la capacidad acumuladora de las plantas.

La fitoremediación representa una alternativa económicamente viable y ambientalmente amigable. La biomasa generada puede ser degradada por compostaje para reducir los volúmenes de efluentes. A diferencia de las tecnologías que involucran microorganismos reductores, para el caso del Hg, el metal contaminante puede ser extraído y acumulado diferente al caso de las bacterias reductora que volatilizan el mercurio y lo liberan al ambiente.

Se han estudiado diferentes especies de plantas de clima templado para procesos de fitirremediación. La especie *Dieffenbachia* (cucaracho), resulto efectiva para procesos de fitoestabilización de mercurio debido a que el metal es acumulado en las raíces. Las especies *Rumexinduratus* y *Marrubiumvulgare* son consideradas plantas aptas para fitorremediación de suelos contaminados con Hg. Las especies *Lippiaoriganoides* (orégano del monte) y *Helianthusannuus* (girasol) son destacadas

por su capacidad acumuladora de Hg en raíces y consideradas plantas fitoestractoras de Hg(**Reyes, 2008**).

En muchos casos la fitorremediación es considerada como un paso de pulimento para terminar procesos de descontaminación en donde fueron aplicadas otras tecnologías de remediación.

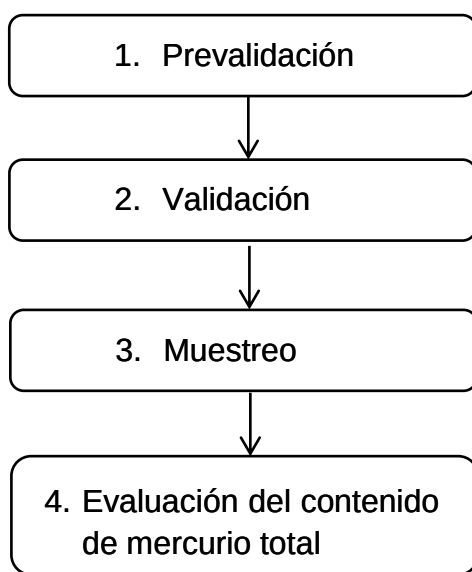
En efecto, ninguna tecnología en sí, es de aplicación universal con el mismo éxito a todo tipo de contaminantes y en todo lugar. En particular, en los casos en que la contaminación es causada por más de un tipo de contaminante, será necesario el uso de más de una técnica de recuperación, para resolver eficazmente los problemas de contaminación.

2. DESARROLLO EXPERIMENTAL

2.1 DISEÑO METODOLOGICO

En el diagrama1, se presenta el diseño metodológico llevado a cabo para el desarrollo del presente proyecto. El diseño consistió en una primera etapa de prevalidación, seguida de la validación, muestreo y finalmente la evaluación del contenido de mercurio total en aguas, suelos y sedimentos del río Suratá.

Diagrama 1. Diseño metodológico



2.2 PREVALIDACIÓN

Antes de validar un método se deben realizar una serie de pasos que consisten en obtener información relevante, orientar y asegurar el proceso de la validación propiamente dicho.

2.2.1 Verificación de procedimiento

Se construyó una curva de calibración de mercurio de 0,0 – 5,0 ng en HNO₃ al 1%, la cual fue usada para determinar por interpolación la concentración de las muestra de aguas, suelos y sedimentos.

2.2.1.1 Mercurio total en aguas

Se midió el volumen de la muestra acuosa con la ayuda de una transferpette y se adicionó a una navecilla previamente quemada a 600 °C, volúmenes mayores a 100 µL fueron secados llevando a una estufa a 40 °C durante 2 horas, se registra en la secuencia del equipo el volumen y la identificación de la muestra y se ubica en el automuestreador en la posición en que se cargó en la secuencia.

2.2.1.2 Mercurio total en suelos

Los suelos fueron pretratados a 40 °C para eliminar humedad y posteriormente se maceraron y se pasaron por un tamiz de 2 mm, este material fue previamente lavado y purgado con HNO₃ exento de mercurio al 1.0 %.

Se midió la masa de la navecilla previamente quemada a 600 °C, se taro la balanza y se adiciono la muestra en la balanza la cual transfiere el valor de la masa directamente a la secuencia, se registró la identificación de la muestra y se ubica en el automuestreador en la posición en que se cargó en la secuencia.

2.2.1.3 Mercurio total en sedimentos

Los suelos fueron pretratados a 40 °C para eliminar humedad y posteriormente se maceraron y se pasaron por un tamiz de 70 µm, este material fue previamente lavado y purgado con HNO₃ exento de mercurio al 1.0 %.

Se midió la masa de la navecilla previamente quemada a 600 °C, se taro la balanza y se adiciono la muestra en la balanza la cual transfiere el valor de la masa directamente a la secuencia, se registró la identificación de la muestra y se ubica en el automuestreador en la posición en que se cargó en la secuencia.

2.2.2 Verificación de patrones y reactivos

Para asegurar la confiabilidad de los resultados el proceso de validación requiere de patrones de referencia y materiales con certificado de pureza o de incertidumbre. En esta etapa se realizó la lista de reactivos y materiales de referencia empleado en la validación, de acuerdo a los siguientes aspectos:

Se identificaron y localizaron los reactivos necesarios para la validación.

Se revisó la ficha técnica, con el fin de conocer la fecha de vencimiento, precauciones de manejo, pureza, cantidad y almacenamiento.

Se identificaron los certificados de los patrones de referencia.

2.2.2.1 Reactivos

Para la elaboración de la curva de calibración se empleó el patrón certificado de Merck de 1000 ppm de Hg y para comprobar la curva de calibración se chequeo con los patrones certificados RTCPE2132 lote 022525 y PE1132 lote022524.

Ácido nítrico 65% para análisis (max. 0.005 ppm Hg) Merck.

Oxigeno ultra puro proporcionado por la empresa Criogas.

2.2.3 Verificación de equipos

Para asegurar la confiabilidad de los resultados se verifico que los equipo empleado en la validación del método en las tres matrices, se encontraran en óptimas condiciones y que los resultados emitidos son veraces.

2.2.3.1 Analizador de mercurio

Las mediciones de mercurio total se realizaron en el equipo HYDRA-C de Teledyne leeman labs, al cual antes de su uso se le pasaron las diferentes pruebas que trae el equipo y se realizó el mantenimiento indicado por el fabricante.

2.2.3.2 Balanza analítica

Se realizó verificación de la balanza analítica Sartorius ED153 con masas certificadas.

2.2.3.3 Estufa de secado

Para el secado de muestras acuosas y pretratamiento de suelos a 40 °C, se empleó la estufa de secado memmert la cual se encuentra calibrada a este punto de temperatura y cuenta con su correspondiente certificado de calibración.

2.2.3.4 Mufla

Para la limpieza de las navecillas portamuestras a 600 °C, se empleó la mufla Heraeus M110 la cual se encuentra calibrada a este punto de temperatura y cuenta con su correspondiente certificado de calibración.

2.2.4 Verificación de material volumétrico

Se realizó el listado de material volumétrico necesario para el desarrollo de la validación, todo el material volumétrico empleado (balones aforados, pipetas aforadas, transferpette,) cuenta con certificado de fábrica donde se especifica su tolerancia respectiva. Antes de utilizar el material volumétrico de vidrio se siguió el protocolo de lavado y secado de material. En cuanto a las transferpetter se desechaban las puntas esterilizadas una vez utilizadas.

2.2.4.1 Protocolo de lavado y secado de material volumétrico

El material volumétrico de vidrio fue empleado para la preparación de patrones de la curva de calibración.

El material fue sumergido completamente en una solución de extran neutro al 5 % por 2 horas.

Se enjuagó con abundante agua de la llave hasta retirar completamente la capa jabonosa.

El material fue sumergido completamente en ácido nítrico exento de mercurio al 5 % por 24 horas.

Se enjuagó tres veces con agua destilada.

Se dispuso el material en el área de secado, se escurrió y se dejó secar por goteo. Para esto los balones se secaron boca abajo y las pipetas en forma vertical.

Una vez seco el material se guardó para proteger del polvo.

2.3 VALIDACIÓN

A continuación se describe el procedimiento usado para la determinación de las Figuras de mérito que garantizan el reporte de resultados confiables.

2.3.1 Curva de calibración

2.3.1.1 Rango bajo

A partir de la solución de referencia certificada de 1000 mg/L de Hg, se realizaron diluciones hasta un patrón de 0,05 mg/L de Hg al 1% de HNO₃, del cual se adicionaron en las navetas previamente quemadas a 600°C alícuotas de 20 µL, 30 µL, 40 µL, 60 µL, 100 µL, 200 µL, quedando cantidades de mercurio de, 1.0 ng, 1.5 ng, 2.0 ng, 3.0 ng, 5,0 ng y 10 ng. Se preparó un blanco con agua al 1 %

de HNO_3 . La curva de calibración fue leída en tres días diferentes y con esta se interpolan las muestras de aguas, suelos y sedimentos.

2.3.1.2 Rango alto

A partir de la solución de referencia certificada de 1000 mg/L de Hg, se realizaron diluciones hasta un patrón de 1,0 mg/L de Hg al 1% de HNO_3 , del cual se adicionaron en las navecillas previamente quemadas a 600°C alícuotas de 50 μL , 60 μL , 80 μL , 100 μL , 200 μL , quedando cantidades de mercurio de 50 ng, 60 ng, 80 ng, 100 ng y 200 ng. Se preparó un blanco con agua al 1 % de HNO_3 . La curva de calibración fue leída en tres días diferentes y con esta se interpolan las muestras de suelos y sedimentos.

2.3.2 Intervalo de validación

2.3.2.1 Rango bajo

La curva de calibración elaborada va de 1.0 a 10.0 ng de Hg, sin embargo la concentración depende de la cantidad de muestra empleada en el análisis, la máxima concentración cuantificable para un volumen de 10 μL en aguas ó una masa de 10 mg en suelos y sedimentos, es de 1.0 ppm de Hg.

Muestras acuosas de concentración mayor a 1.0 ppm de Hg, se diluyen y el factor de dilución es tenido en cuenta para el cálculo.

2.3.1.2 Rango alto

La curva de calibración elaborada va de 50.0 a 200 ng de Hg, sin embargo la concentración está dada por la cantidad de muestra empleada en el análisis, la máxima concentración cuantificable para un volumen de 10 μL en aguas ó una masa de 10 mg en suelos y sedimentos, es de 20.0 ppm de Hg.

2.3.3 Linealidad

Para comprobar la linealidad de las curvas de calibración (rango alto y rango bajo), se realizó la prueba de t student a la recta de mínimos cuadrados y se demostró estadísticamente que el coeficiente de correlación es significativo. Para este fin el valor t fue calculado usando la ecuación:

$$t_{cal} = \frac{|r|\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}} \quad (2.1)$$

Siendo r el coeficiente de correlación y n el número de pares usados para calcular r. El valor calculado de t se compara con el t tabulado al nivel de significancia del 95%, usando la prueba t student de dos colas y (n – 2) grados de libertad, ver anexo A. La hipótesis nula en este caso es que no existe correlación entre X y Y. Si el valor calculado de t es mayor que el t tabulado la hipótesis nula se rechaza y se concluye que existe una correlación significativa.

2.3.4 Diseño experimental

Con el fin de evaluar la reproducibilidad del método y estabilidad de las muestras en el tiempo se analizaron durante cinco días en un solo lote por día, las siguientes soluciones de referencia, muestras y muestras dopadas:

- 2 blancos (BK₁, BK₂)
- 2 soluciones estándar (E₁, E₂) curva rango bajo
- 2 soluciones estándar (E₃, E₄) curva rango alto
- 2 muestras naturales aguas (A₁, A₂)
- 2 muestras aguas dopadas (A₁ + D₁, A₂ + D₂)
- 2 muestras naturales suelos (Su₁, Su₂)
- 2 muestras suelos dopados (Su₁ + D₁, Su₁ + D₂)
- 2 muestras naturales de sedimento (Se₁, Se₂)
- 2 muestras sedimentos dopados (Se₁ + D₁, Se₁ + D₂)

- 2 soluciones de referencia certificada (R_1 , R_2)

2.3.5 Descripción de cada lote

Blancos: Se prepararon con agua destilada al 1 % en HNO_3 . Permitieron el cálculo del límite de detección y de cuantificación. Evaluar posibles contaminaciones de agua destilada, navetas de níquel, equipo Hydra C.

Soluciones estándar: Se comprobaron los extremos de la curva de calibración (9.0% y el 90 %), conociendo que el rango de la curva de calibración es de 1.0 a 10.0 ng de Hg, se pasaron los estándares, E1, 0.09×10 ng (0.9 ng) y E2, 0.9×10 ng (9.0 ng) para el rango bajo y para el rango alto se pasaron los estándares, E3 (60 ng) y E4 (180 ng).

Muestras naturales: Permitieron determinar la precisión del método y evaluar efectos de matriz.

Muestras naturales de aguas, se analizaron muestras del río frío (A_1) y una muestra del río Suratá aguas arriba del punto de captación de agua (A_2).

Muestras naturales de suelos. fueron tomados en los alrededores del laboratorio de la CDMB, finca la Esperanza – vereda helechales (SU_1 , SU_2).

Muestras naturales de sedimentos, fueron usados dos sedimentos del monitoreo del río Vetás y Suratá, tomados por personal de la CDMB que se encontraban en el laboratorio (SE_1 , SE_2).

Muestras dopadas: Permitieron determinar la exactitud del método mediante el cálculo de porcentaje de recuperación, ya que no se contaba con patrones certificados para suelos y sedimentos.

Solución de referencia certificada: permite evaluar exactitud, precisión y evaluar la curva de calibración, ya que es una solución de referencia diferente a la usada para la preparación de los patrones de la curva de calibración.

2.3.6 Mínima concentración detectable

Con los blancos BK₁ y BK₂ obtenidos en el diseño de experimentos, se calculó la mínima concentración detectable del método empleando la ecuación (2.1):

$$MCD = \bar{X} + 3 * SD \quad (2.1)$$

Donde $\bar{X}$ es el valor medio de los blancos y SD es la desviación estándar de las determinaciones.

2.3.7 Mínima concentración cuantificable

Con los blancos BK₁ y BK₂ obtenidos en el diseño de experimentos, se calculó la mínima concentración cuantificable del método empleando la ecuación (2.2):

$$MCC = \bar{X} + 10 * SD \quad (2.2)$$

Donde $\bar{X}$ es el valor medio de los blancos y SD es la desviación estándar de las determinaciones.

Posteriormente, la mínima concentración cuantificable fue comprobada mediante una repetibilidad de 8 datos de la concentración obtenida mediante el cálculo.

2.3.8 Sensibilidad del método

La sensibilidad del método fue determinada mediante el cálculo de la pendiente de la recta de mínimos cuadrados, para los dos rangos de trabajo.

2.3.9 Precisión

La precisión fue determinada mediante el cálculo del coeficiente de variación o desviación estándar relativa para las muestras naturales de aguas, suelos y sedimentos.

2.3.10 Exactitud

Se calculó mediante el porcentaje de error de los patrones empleados para confirmar el rango de la curva de calibración y mediante el cálculo del porcentaje

de recuperación de las muestras adicionadas tanto para aguas, suelos y sedimentos.

2.3.11 Carta de control

2.3.11.1 Carta de control aguas

Para la elaboración de la carta de control diariamente se analizó una solución de referencia de 50.0 ppb, preparada a partir de una solución patrón de 1000 ppm.

2.3.11.2 Carta de control suelos

Para la elaboración de la carta de control diariamente se analizó una muestra de suelo dopada con una concentración conocida, la carta de control se ingresa en porcentaje de recuperación con el fin de evaluar la recuperación en diferentes concentraciones.

2.3.11.3 Carta de control sedimentos

Para la elaboración de la carta de control diariamente se analizó una muestra de sedimento dopada con una concentración conocida, la carta de control se ingresa en porcentaje de recuperación con el fin de evaluar la recuperación en diferentes concentraciones.

2.3.12 Estimación de incertidumbre

La incertidumbre para el método de mercurio total fue estimada de acuerdo a EURACHEM (2012) para aguas, suelos y sedimentos.

2.3.12.1 Identificación de las fuentes individuales mercurio en aguas

En cada una de las etapas de la metodología se identificaron las fuentes de incertidumbre como se muestra en las Figura 3,4 y 5, para las matrices aguas, suelos y sedimentos respectivamente.

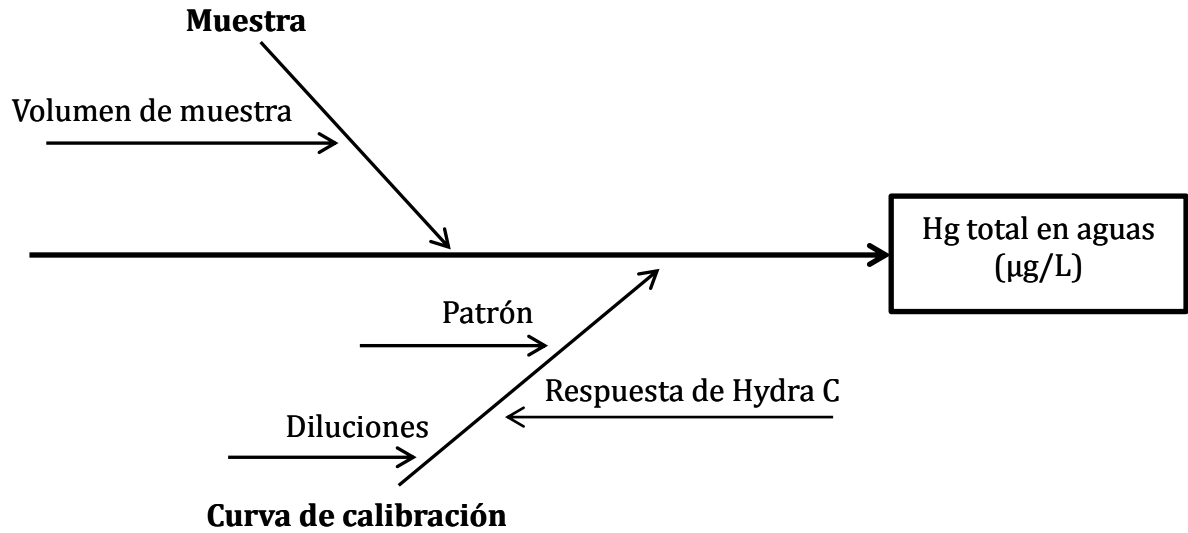


Figura 2.1 Diagrama causa y efecto para estimación de incertidumbre Hg en aguas

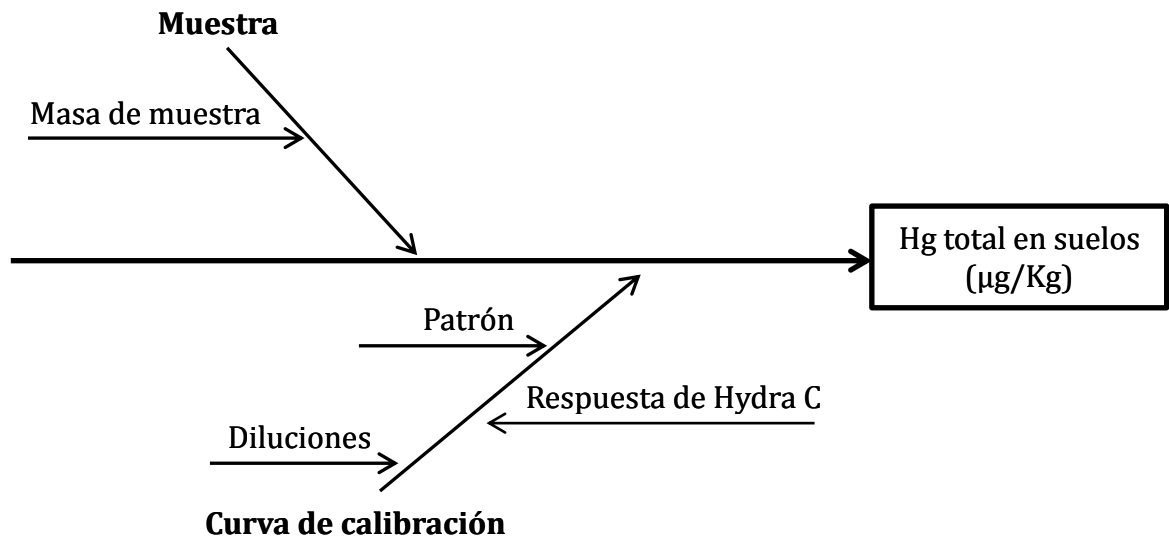


Figura 2.2 Diagrama causa y efecto para estimación de incertidumbre Hg en suelos.

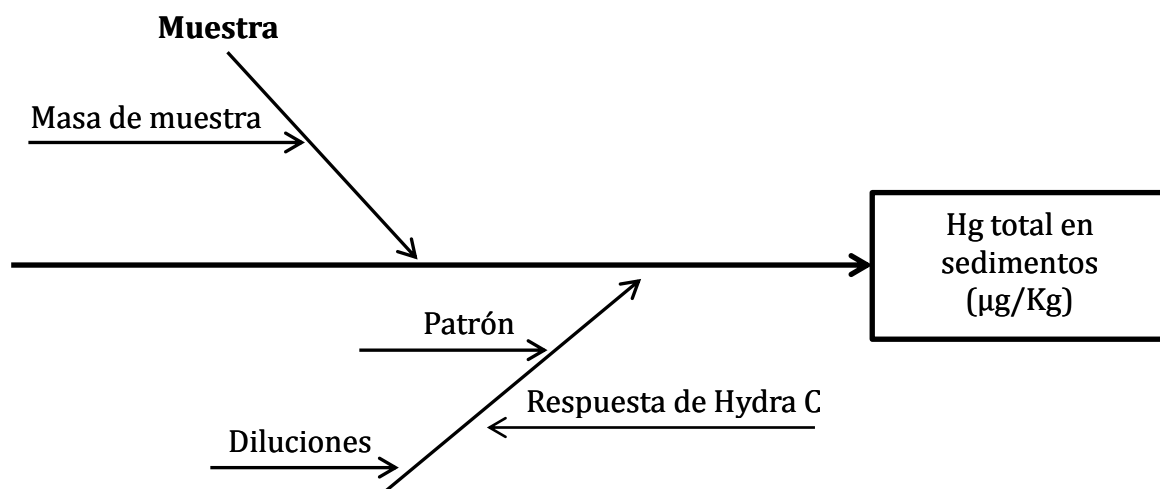


Figura 2.3 Diagrama causa y efecto para estimación de incertidumbre Hg en sedimentos.

2.4 MUESTREO

Los puntos de muestreo de agua fueron seleccionados de acuerdo a las confluencias de los ríos Charta, Tona y Vetás con el río Suratá, con el fin de medir el aporte de mercurio o remediación del mismo por efecto de dilución.

2.4.1 Aguas

Las muestras fueron tomadas en el centro del cuerpo de agua en contra corriente en un frasco de vidrio ámbar de 250 mL, se etiquetaron y preservaron a pH < 2.0 unidades de pH con HNO₃ exento de mercurio y transportadas refrigeradas a una temperatura < 6.0 °C, hasta el laboratorio de aguas y suelos de la CDMB donde fueron almacenadas en el cuarto frío hasta el día del análisis.

2.4.2 Suelos

Las muestras fueron tomadas en suelos cercanos al punto de muestreo del agua, se realizó un cuadrado de 1 m² y se tomaron cinco submuestras como se muestra en la Figura 2.4, posteriormente fueron cuarteadas, para lo cual se homogenizaron

las submuestras en una bandeja de acero inoxidable con la ayuda de un pala metálica y mediante balanceo, haciendo rodar el suelo hacia los vértices de la bandeja, seguidamente se divide la muestra homogenizada en 4 porciones y se descartan dos de los cuadrantes situados diagonalmente, los otros dos cuadrantes se mezclan y se repite la homogenización y cuarteo (ver Figura 2.5). La muestra obtenida es almacenada en bolsas plásticas de sellado hermético, se etiquetaron y trasportaron a una temperatura $< 6.0\text{ }^{\circ}\text{C}$, hasta el laboratorio de aguas y suelos de la CDMB donde fueron almacenadas en el cuarto frio hasta el día del análisis.



Figura 2.4Fotografía de la toma de las muestras de suelo



Figura 2.5Fotografía que representa el cuarteo de la muestra de suelo

2.4.3 Sedimentos

Las muestras fueron tomadas en el sedimento que se deposita a las orillas del río, cuando las dos orillas tenían sedimento se procedió a tomar partes iguales de las dos orilla y se compuso en una sola muestra, las cuales fueron almacenadas en bolsas plásticas de sellado hermético, etiquetadas y transportadas refrigeradas a una temperatura $< 6.0\text{ }^{\circ}\text{C}$, hasta el laboratorio de aguas y suelos de la CDMB donde fueron almacenadas en el cuarto frío hasta el día del análisis.

2.5 EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE MERCURIO TOTAL

Todas las muestras en las diferentes matrices fueron analizadas por duplicado y como criterio de aceptación se utilizó el porcentaje de diferencia relativa (RPD) $< 10\%$.

3 RESULTADOS Y DISCUSION

3.1 VALIDACIÓN

3.1.1 Curva de calibración

Rango bajo

Los resultados de las tres curvas de calibración elaboradas en días diferentes se encuentran en la Tabla 3.1

Tabla 3.1 Datos obtenidos para la construcción de la curva de calibración de bajas concentraciones.

Patrón [ng]	Día 1	Día 2	Día 3	Promedio
1.0	14633	14984	14633	14750
1.5	22205	20733	21611	21516
2.0	31158	29977	30320	30485
3.0	48692	49138	49259	49030
5.0	81030	83350	85384	83255
10.0	152341	153419	155000	153587
r	0,9991	0,9982	0,9979	0,9984
m	15335	15576	15765	15559
b	837	190	251	426

Con el promedio de las absorbancias de cada patrón se construyó la curva de calibración de mercurio total rango bajo mostrada en la Figura 3.1

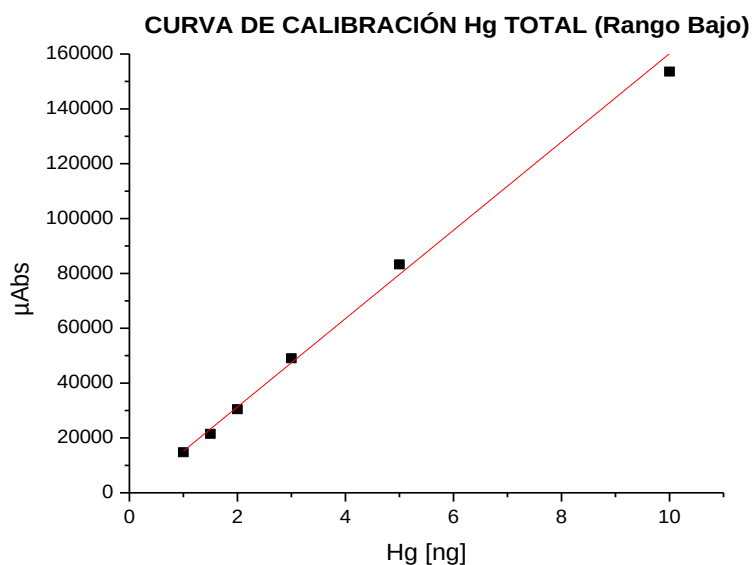


Figura 3. 1 Curva de calibración de Hg total para el rango bajo

Rango alto

Los resultados de las tres curvas de calibración elaboradas en días diferentes se encuentran en la Tabla 3.1

Tabla 3. 2 Datos obtenidos para la construcción de la curva de calibración de concentraciones altas

Patrón [ng]	Día 1	Día 2	Día 3	Promedio
50	53950	51997	48904	51617
60	61809	62039	62889	62246
80	82808	92536	90100	88481
100	115303	116224	112568	114698
200	227676	220195	220195	222689
r	0,9988	0,9979	0,9988	0,9991
m	1176	1117	1128	1140
b	-6913	-862	-3562	-3779

Con el promedio de las absorbancias de cada patrón se construyó la curva de calibración de mercurio total rango alto mostrada en la Figura 3.2.

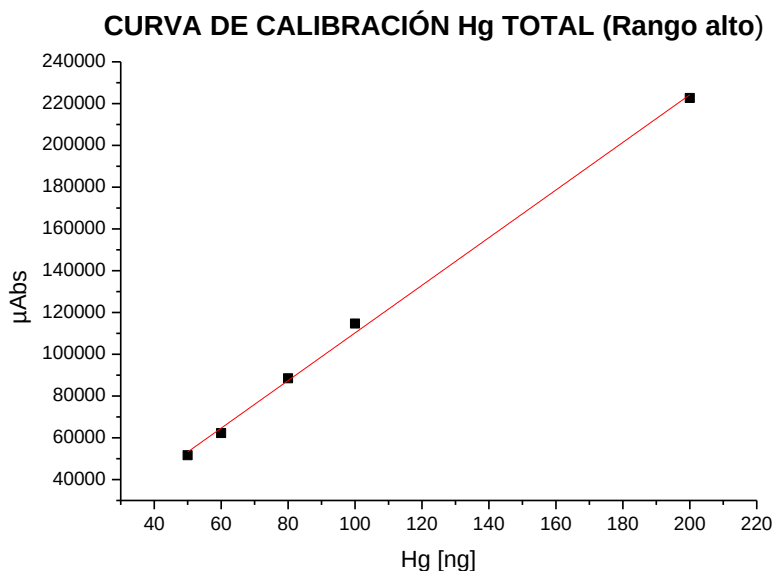


Figura 3.2 Curva de calibración de Hg total para el rango alto

3.1.2 Intervalo de validación

Rango bajo

La curva de calibración elaborada va de 1.0 a 10.0 ng de Hg, el rango de concentración para esta curva va de 1.67ppb – 1000 ppb (empleando 600μL para aguas ó 600 mg para suelos y sedimentos- 10 μL para aguas ó 10 mg para suelos y sedimentos).

Rango alto

La curva de calibración elaborada va de 50.0 a 200 ng de Hg, el rango de concentración para esta curva va de 83.0 ppb – 20000 ppb (empleando 600μL para aguas ó 600 mg para suelos y sedimentos- 10 μL para aguas ó 10 mg para suelos y sedimentos).

3.1.3 Linealidad

Rango bajo

Para la determinación de Hg en muestras de aguas y suelos fue construida una curva de calibración, presentada en la Figura 3.1. La curva fue construida en el rango de concentración de 1,0 a 10 ng de Hg. La ecuación de línea recta que relaciona la concentración de Hg con la absorbancia registrada por el equipo se presenta a continuación:

$$\mu\text{Abs} = 15559 \frac{\mu\text{Abs}}{\text{ng [Hg]}} * \text{ng [Hg]} + 426$$

La linealidad fue evaluada estadísticamente por medio de la prueba t realizada a la curva de calibración. El valor de t tabulado con 4 grados de libertad (6 puntos en la curva de calibración) y $\alpha=0,05$ (95 % de confianza) fue de 2,78. El valor de t calculado de acuerdo con la ecuación 2.1 fue de 35,3; este valor es mayor que el valor de t tabulado, por tanto se rechaza la hipótesis nula (no existe correlación entre las variables) y se puede afirmar que el coeficiente de correlación es estadísticamente significativo para el número de puntos usados en la curva de calibración, por lo tanto, el método es lineal dentro del rango estudiado.

Con el objetivo de verificar la inexistencia de errores sistemáticos durante la elaboración de la curva de calibración, fue construido el gráfico de residuos, para la curva de calibración, presentado en la Figura 3.3. El comportamiento aleatorio de las medidas permite concluir que no existen tendencias en las medidas de absorbancia al aumentar la concentración.

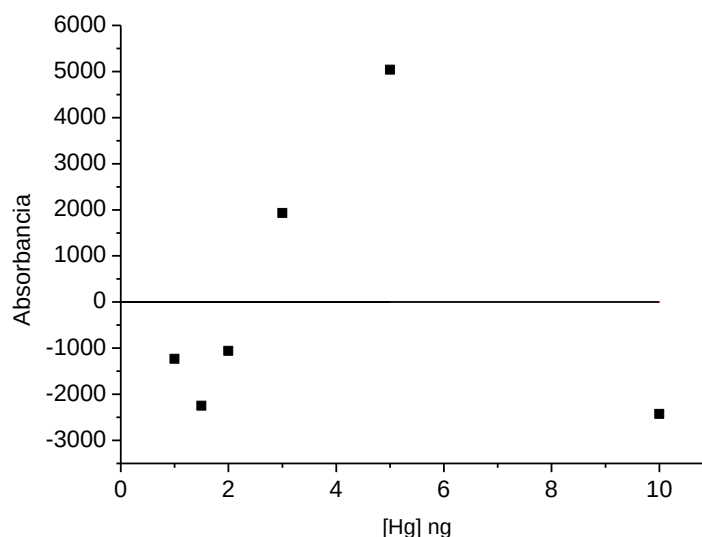


Figura 3.3 Gráfica de residuos para la curva de calibración de rango bajo

Rango Alto

La Figura 3.2 representa la dependencia lineal existente entre la concentración de Hg y la respuesta del equipo, dicha relación puede ser representada por la siguiente ecuación:

$$\mu\text{Abs} = 1140 \frac{\mu\text{Abs}}{\text{ng [Hg]}} * \text{ng [Hg]} - 3779$$

La respuesta del equipo fue lineal en el rango de concentración comprendido entre 50 a 200 ng de Hg. Nuevamente la linealidad fue evaluada estadísticamente por medio de la prueba t realizada a la curva de calibración. El valor de t tabulado con 3 grados de libertad (5 puntos en la curva de calibración) y $\alpha=0,05$ fue de 3,18. El valor de t calculado de acuerdo con la ecuación 2.1 fue de 40.8; este valor es mayor que el valor de t tabulado, por tanto se rechaza la hipótesis nula, esto indica de forma precisa, que el coeficiente de correlación es estadísticamente significativo para el número de puntos usados en la curva de calibración. La curva

de calibración, por tanto, es lineal dentro del rango estudiado. Esta curva fue construida con el objetivo de determinar la concentración de Hg, de forma precisa, en muestras de sedimentos con concentraciones atípicamente elevadas de Hg.

El gráfico de residuos de la Figura 3.4, indica que las medidas de absorbancia registradas durante la elaboración de la curva de calibración, varían de forma aleatoria sin la presencia de tendencias pronunciadas, esto indica, que no existen errores sistemáticos durante la construcción de la curva de calibración.

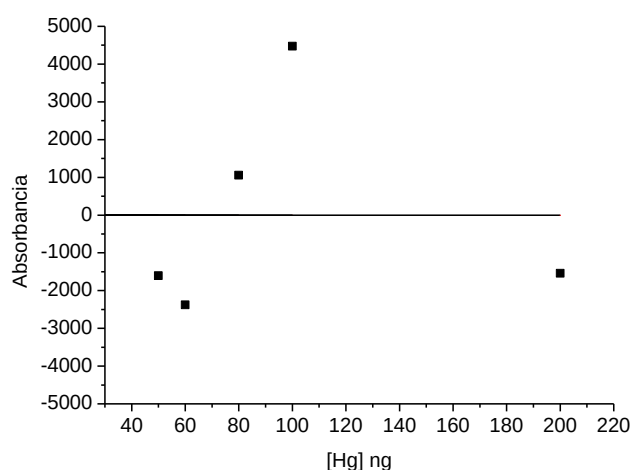


Figura 3. 4Gráfico de residuos para la curva de calibración de rango alto

3.1.4 Diseño experimental

Se realizó la determinación de mercurio total durante cinco días. Los datos se muestran en la Tabla 3.3.

Tabla 3. 3Diseño experimental realizado para la validación de Hg

Día	BK₁	BK₂	E₁	E₂	E₃	E₄	R₁	R₂	A₁	A₂
	[ppb]	[ppb]	[ng]	[ng]	[ng]	[ng]	[ppb]	[ppb]	[ppb]	[ppb]
1	0,2674	0,1379	0,97	8,62	54,3	162,6	10,5	21,2	<0,5	<0,5
2	0,2021	0,2497	1,03	8,37	53,8	173,3	10,0	20,1	<0,5	<0,5
3	0,1381	0,2020	1,09	8,38	61,4	165,9	12,2	19,3	<0,5	<0,5
4	0,1998	0,1824	0,96	8,05	55,6	163,9	11,6	19,7	<0,5	<0,5
5	0,1857	0,2688	0,87	7,87	50,0	169,9	12,0	17,2	<0,5	<0,5
Media	0,2034		0,98	8,26	55,0	167,1	11,3	19,5	<0,5	<0,5
Desv.	0,0470		0,0823	0,2968	4,1306	4,4218	0,9653	1,4680		-
%CV	23,1		8,37	3,59	7,51	2,65	8,57	7,53		-
% Error	-		9,33	8,24	8,30	7,16	9,30	8,33		-
% R.	-		-	-	-	-	-	-		-

Día	A₁ + D₁ [ppb]	A₂ + D₂ [ppb]	SU₁ [ppb]	SU₂ [ppb]	SU₁ + D₁ [ppb]	SU₂ + D₂ [ppb]	Se₁ [ppb]	Se₂ [ppb]	Se₁ + D₁ [ppb]	Se₂ + D₂ [ppb]
1	47,80	187,3	33,2	170,6	95,5	416,2	74,24	506,6	139,0	754,6
2	52,90	190,2	32,0	178,3	87,9	407,5	92,42	555,8	145,8	721,8
3	47,00	192,3	36,8	196,6	82,3	392,3	76,22	461,3	131,3	736,6
4	42,00	182,1	37,0	172,3	96,8	425,1	81,87	500,8	142,3	728,6
5	49,30	185,2	35,6	187,7	94,0	410,3	82,39	490,5	138,3	745,6
Media	47,8	187,4	34,9	181,1	91,3	410,3	81,4	503,0	139,3	737,4
Desv.	3,9541	4,0245	2,2539	10,9525	6,0774	12,1005	7,085	34,281	5,3929	13,0816
%CV	8,27	2,15	6,46	6,05	6,66	2,95	8,70	6,82	3,87	1,77
% Error	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
% R.	95,6	93,7	-	-	112,8	114,6	-	-	115,8	117,2

3.1.5 Mínima concentración detectable

La mínima concentración detectable se calculó empleando la ecuación 2.1 y con los datos BK₁ y BK₂ de la Tabla 3.3.

$$\text{MCD} = 0.20 + 3 * 0.047 = 0.34 \text{ ppb}$$

3.1.6 Mínima concentración cuantificable

Con los blancos BK₁ y BK₂ obtenidos en el diseño de experimentos (Tabla 3.3), se calculó la mínima concentración cuantificable del método empleando la ecuación 2.2.

$$\text{MCC} = 0.20 + 10 * 0.047 = 0.67 \text{ ppb}$$

La mínima concentración cuantificable obtenida mediante el cálculo fue de 0.67 ppb, sin embargo por efectos de cálculo, se analiza una repetibilidad de 8 datos de una solución de 0.50 ppb para comprobación de la MCC, obteniendo se los resultados de la Tabla 3.4.

Tabla 3. 4 Determinaciones de Hg realizadas para el cálculo de repetibilidad de la mínima concentración cuantificable

Dato	ppb
1	0.467
2	0.533
3	0.500
4	0.517
5	0.517
6	0.500
7	0.517
8	0.467
Promedio	0.507
Desv.	0.0212

Precisión (% CV)	4.18
Exactitud (% Error)	1.43

3.1.7 Sensibilidad del método

Rango bajo

La sensibilidad se determinó como el promedio de las pendientes de las curvas de calibración obtenidas de las lecturas realizadas durante los 3 días, como se indica en la Tabla 3.1 la pendiente promedio es 15559 $\mu\text{Abs}/\text{ng}$.

El valor de la sensibilidad indica que la variación en 1.0 ng representa una respuesta del instrumento de 15559 μAbs .

Rango alto

La sensibilidad se determinó como el promedio de las pendientes de las curvas de calibración obtenidas de las lecturas realizadas durante los 3 días, como se indica en la Tabla 3.2 la pendiente promedio es 1140 $\mu\text{Abs}/\text{ng}$.

El valor de la sensibilidad indica que la variación en 1.0 ng representa una respuesta del instrumento de 1140 μAbs .

3.1.8 Precisión

La precisión fue evaluada en términos de coeficiente de variación (CV) para las soluciones de referencia, blancos, muestras y muestras dopadas, como se muestra en la Tabla 3.3.

Se observaron resultados precisos para las matrices estudiadas debido a que todos los resultados a excepción del blanco obtuvieron un coeficiente de variación $<10\%$. Para el caso del blanco se esperaba este resultado $>10\%$ ya que la dispersión de los blancos para los casos fotométricos es grande.

3.1.9 Exactitud

La exactitud se evaluó en términos de porcentaje de recuperación para las muestras dopadas y como porcentaje de error para los estándares de concentración conocida reportados en la Tabla 3.3.

En términos generales el método es exacto debido a que los porcentajes de recuperación se encuentran dentro del rango de 80 a 120 %. Para el caso de las muestras de agua dopadas ($A_1 + D_1$; $A_2 + D_2$) el porcentaje de recuperación se encuentra alrededor del 90 %, lo que indica posibles pérdidas en el momento del secado de la muestra a 40 °C si comparamos con los resultados por encima del 100 % obtenidos para suelos y sedimentos dopados, siendo estos últimos los de mayor valor.

3.1.10 Carta de control

3.1.10.1 Carta de control aguas

Se construyó la carta de control analítica (ver Figura 3.5) mediante los datos de la medición de la concentración de un patrón de 50.0ppb durante un periodo de 10 días.

De la carta de control se evidencia que no hay tendencias marcadas, ni puntos fuera de los límites de cuidado, se observa un comportamiento aleatorio de los datos indicando que el método no se encuentra sujeto a errores aleatorios.

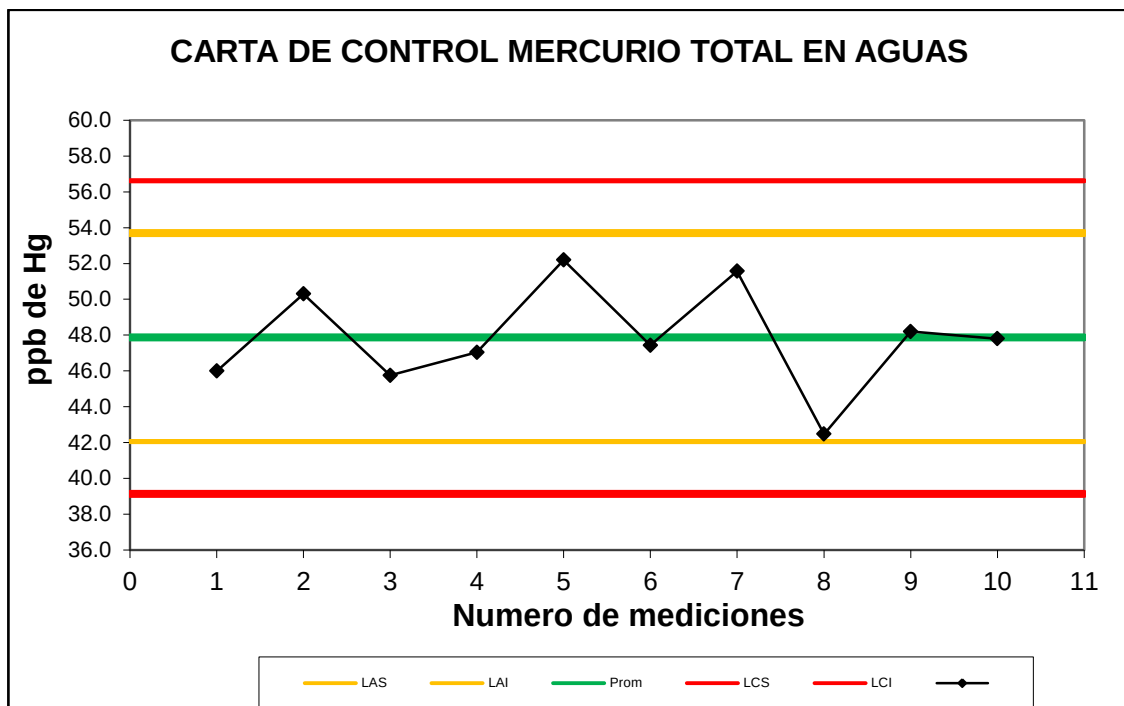


Figura 3. 5 Carta de control analítico para la determinación de Hg en aguas

3.1.10.2 Carta de control suelos

Se construyó la carta de control analítica (ver Figura 3.6) en porcentaje de recuperación con el fin de no fijar un valor de concentración conocida y de esta forma evaluar los diferentes rangos de las curvas de calibración, realizando dopajes de diferente concentración. Estas mediciones se realizaron por un periodo de 10 días.

De la carta de control se evidencia que no hay tendencias marcadas, ni puntos fuera de los límites de cuidado, se observa un comportamiento aleatorio de los datos indicando que el método no se encuentra sujeto a errores aleatorios.

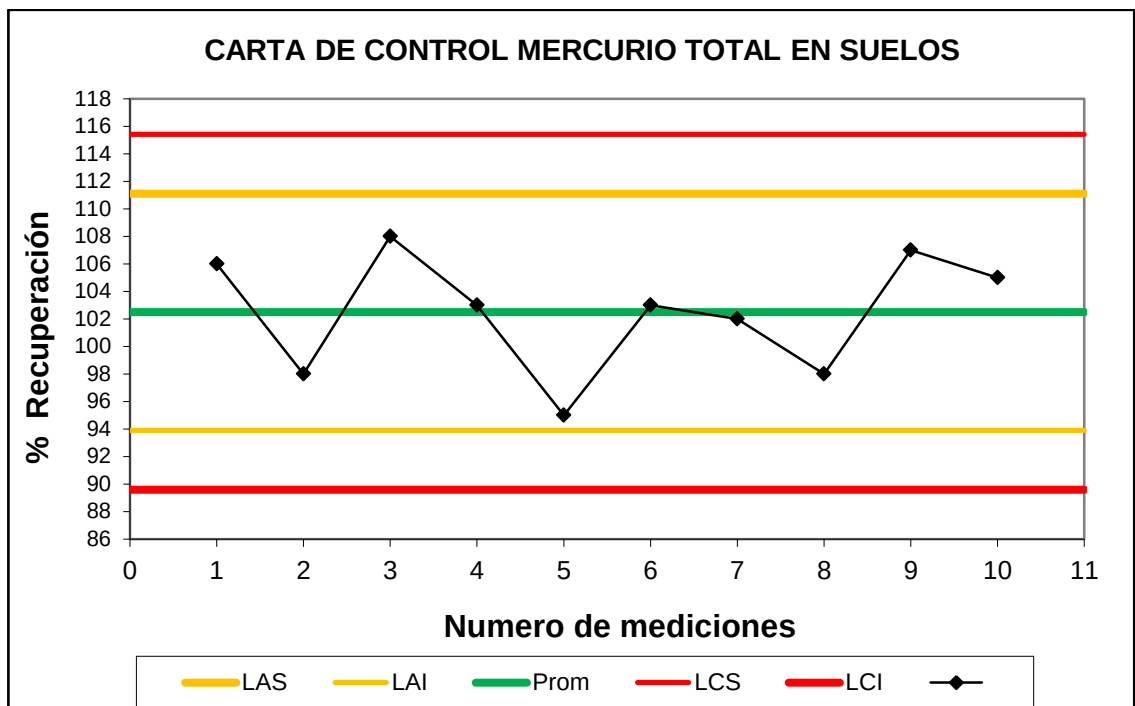


Figura 3. 6 Carta de control analítico para la determinación de Hg en suelos

3.1.10.3 Carta de control sedimentos

Se construyó la carta de control analítica (ver Figura 3.7) en porcentaje de recuperación con el fin de no fijar un valor de concentración único y de esta forma evaluar los diferentes rangos de las curvas de calibración, realizando dopajes de diferente concentración. Estas mediciones se realizaron por un periodo de 10 días.

De la carta de control se evidencia que no hay tendencias marcadas, ni puntos fuera de los límites de cuidado, se observa un comportamiento aleatorio de los datos indicando que el método no se encuentra sujeto a errores aleatorios.

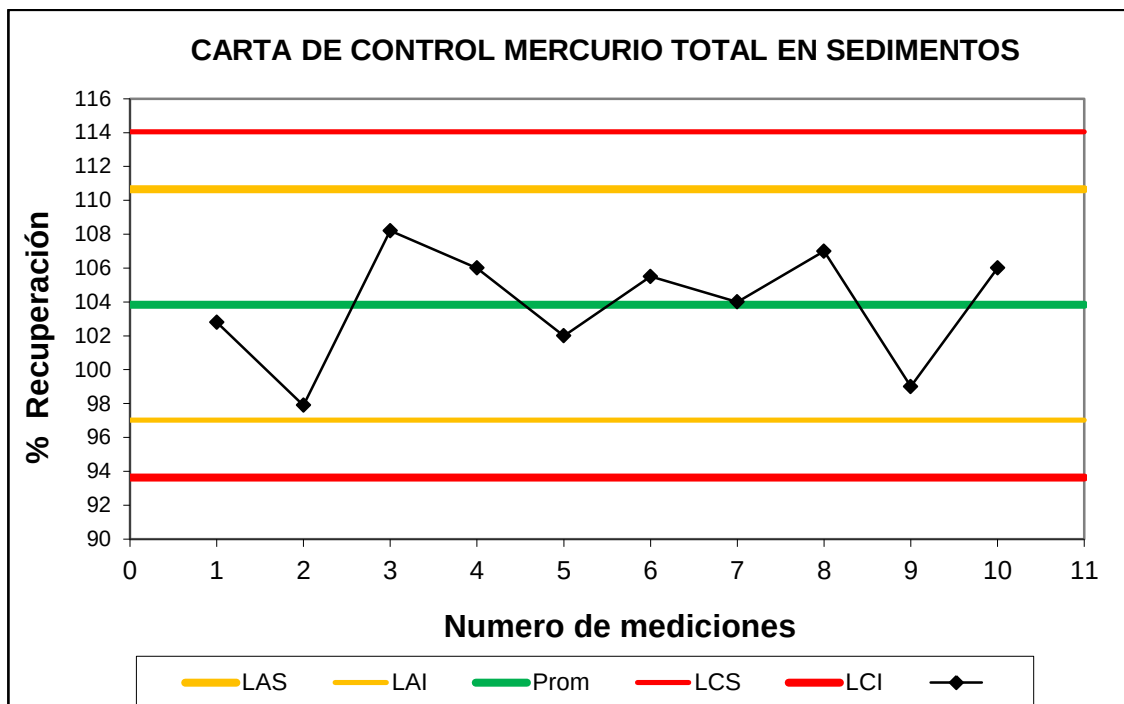


Figura 3. 7 Carta de control analítico para la determinación de Hg en sedimentos

3.2 Estimación de incertidumbre

3.2.1 Estimación incertidumbre mercurio total en aguas rango bajo

Volumen de muestra

Se estimó la incertidumbre aportada al medir el volumen de muestra. Para este aporte se tuvo en cuenta la incertidumbre dada por la división de escala y la incertidumbre en la calibración de fábrica.

- Incertidumbre estándar asociada a la división de la escala de transferpette s 100 – 1000 µL

División de escala 0.000001 L
$$U_1 = \frac{0.000001}{\sqrt{3}} = 5.77E^{-7}$$

- Incertidumbre estándar asociada a la calibración de la transferpette s 100 – 1000 µL

El certificado de la transferpette s 100 – 1000 µL de Brand indica un error de 5 µL

$$U_2 = \frac{0.000005}{\sqrt{3}} = 2.89E^{-6}$$

- Incertidumbre combinada asociada al volumen de las muestras

$$U_{c1} = \sqrt{(U_1)^2 + (U_2)^2} = \sqrt{(5.77E^{-7})^2 + (2.89E^{-6})^2} = 2.95E^{-6}$$

- **Incertidumbre estándar relativa asociada al volumen de muestra**

La incertidumbre estándar relativa del volumen de muestra está dada por el cociente entre la incertidumbre combina y el peso de la muestra.

$$U_{ER1} = \frac{U_{c1}}{0.600} = \frac{2.95E^{-6}}{0.600} = 4.92E^{-6}$$

Curva de calibración

- Incertidumbre estándar asociada al material de referencia certificado.

El certiPur de 1000 mg Hg/L Merck trazable a la NIST, reporta una incertidumbre de ± 2 mg/L. Asumiendo distribución rectangular.

$$U_3 = \frac{2}{\sqrt{3}} = 1.1547$$

- **Incertidumbre estándar relativa asociada al material de referencia certificado.**

Se obtiene dividiendo la incertidumbre estándar por el valor de concentración del material de referencia certificado empleado para elaborar la curva de calibración.

$$U_{ER2} = \frac{U_3}{1000} = \frac{1.1547}{1000} = 1.1547E^{-3}$$

- Incertidumbre asociada al primer factor de dilución (solución 10 mg/L)

Para la preparación de la solución de 10 mg/L, se tomó 1.0 mL de la solución de 1000 mg/L y se aforó a 100 mL, para la estimación de la incertidumbre se tienen en cuenta los aportes de la pipeta clase A de 1.0 mL Brand y del balón aforado de 100 mL Brand.

- Incertidumbre estándar por la tolerancia de la pipeta de 1.0 mL

La tolerancia reportada por el fabricante es de ± 0.0070 mL y asumiendo una distribución triangular, la incertidumbre está dada por:

$$U_4 = \frac{0.0070}{\sqrt{3}} = 4.0415E^{-3}$$

- Incertidumbre estándar por el efecto de la temperatura

Debido a que el fabricante reporta la tolerancia a 20 °C y el laboratorio se encontraba a 23 °C, las mediciones se realizaron con una variación de 3°C. La incertidumbre está dada por la multiplicación de la variación de la temperatura (3°C), el coeficiente de expansión del agua ($2E^{-4}$) y el volumen del material volumétrico (1mL), asumiendo distribución rectangular.

$$U_5 = \frac{(3) * (2E^{-4}) * (1.0)}{\sqrt{3}} = 0.3464E^{-3}$$

- Incertidumbre combinada asociada a la pipeta de 1.0 mL

$$U_{c2} = \sqrt{(U_4)^2 + (U_5)^2} = \sqrt{(4.0415E^{-3})^2 + (0.3464E^{-3})^2} = 4.0563E^{-3}$$

- Incertidumbre estándar relativa asociada a la pipeta de 1.0 mL

$$U_{ER3} = \frac{U_{c2}}{1.0} = \frac{4.0563E^{-3}}{1.0} = 1.1547E^{-3}$$

- Incertidumbre estándar por la tolerancia del balón aforado de 100 mL

La tolerancia reportada por el fabricante es de ± 0.1000 mL y asumiendo una distribución triangular, la incertidumbre está dada por:

$$U_6 = \frac{0.1000}{\sqrt{3}} = 5.774E^{-2}$$

- Incertidumbre estándar por el efecto de la temperatura

Debido a que el fabricante reporta la tolerancia a 20 °C y el laboratorio se encontraba a 23 °C, las mediciones se realizaron con una variación de 3°C. La incertidumbre está dada por la multiplicación de la variación de la temperatura (3°C), el coeficiente de expansión del agua ($2E^{-4}$) y el volumen del material volumétrico (100 mL), asumiendo distribución rectangular.

$$U_7 = \frac{(3) * (2E^{-4}) * (100)}{\sqrt{3}} = 3.464E^{-2}$$

- Incertidumbre combinada asociada al balón aforado de 100 mL

$$U_{c3} = \sqrt{(U_6)^2 + (U_7)^2} = \sqrt{(5.774E^{-2})^2 + (3.464E^{-2})^2} = 6.733E^{-2}$$

- Incertidumbre estándar relativa asociada al balón aforado de 100 mL

$$U_{ER4} = \frac{U_{c3}}{100} = \frac{6.733E^{-2}}{100} = 6.733E^{-3}$$

- Incertidumbre estándar relativa asociada al primer factor de dilución.

Obtenida combinando las incertidumbres estándar relativa estimadas para la pipeta de 1.0 mL (U_{ER3}) y la incertidumbre estándar relativa estimada del balón de 100 mL (U_{ER4})

$$U_{ER5} = \sqrt{(U_{ER3})^2 + (U_{ER4})^2} = \sqrt{(1.1547E^{-3})^2 + (0.6733E^{-3})^2} = 1.337E^{-3}$$

- Incertidumbre asociada al segundo factor de dilución (solución 1.0 mg/L)

Para la preparación de la solución de 1.0 mg/L, se tomaron 10 mL de la solución de 10 mg/L y se aforó a 100 mL, para la estimación de la incertidumbre se tienen en cuenta los aportes de la pipeta clase A de 10 mL Brand y del balón aforado de 100 mL Brand.

- Incertidumbre estándar por la tolerancia de la pipeta de 10 mL

La tolerancia reportada por el fabricante es de ± 0.0200 mL y asumiendo una distribución triangular, la incertidumbre está dada por:

$$U_8 = \frac{0.0200}{\sqrt{3}} = 1.1547E^{-2}$$

- Incertidumbre estándar por el efecto de la temperatura

Debido a que el fabricante reporta la tolerancia a 20 °C y el laboratorio se encontraba a 23 °C, las mediciones se realizaron con una variación de 3°C. La incertidumbre está dada por la multiplicación de la variación de la temperatura (3°C), el coeficiente de expansión del agua ($2E^{-4}$) y el volumen del material volumétrico (10 mL), asumiendo distribución rectangular.

$$U_9 = \frac{(3) * (2E^{-4}) * (10)}{\sqrt{3}} = 0.3464E^{-2}$$

- Incertidumbre combinada asociada a la pipeta de 10 mL

$$U_{c4} = \sqrt{(U_8)^2 + (U_9)^2} = \sqrt{(1.1547E^{-2})^2 + (0.3464E^{-2})^2} = 1.2055E^{-2}$$

- Incertidumbre estándar relativa asociada a la pipeta de 10 mL

$$U_{ER6} = \frac{U_{c4}}{10} = \frac{1.2055E^{-2}}{10} = 1.2055E^{-3}$$

- Incertidumbre estándar relativa asociada al balón aforado de 100 mL

Ya fue estimada anteriormente donde se obtuvo

$$U_{ER4} = 0.6733E^{-3}$$

- Incertidumbre estándar relativa asociada al segundo factor de dilución.

Obtenida combinando las incertidumbres estándar relativa estimadas para la pipeta de 10 mL (U_{ER6}) y la incertidumbre estándar relativa estimada del balón de 100 mL (U_{ER4})

$$U_{ER7} = \sqrt{(U_{ER6})^2 + (U_{ER4})^2} = \sqrt{(1.2055E^{-3})^2 + (0.6733E^{-3})^2} = 1.381E^{-3}$$

- Incertidumbre asociada al tercer factor de dilución (solución 0.05 mg/L)

Para la preparación de la solución de 0.05 mg/L, se tomaron 5.0 mL de la solución de 1.0 mg/L y se aforó a 100 mL, para la estimación de la incertidumbre se tienen en cuenta los aportes de la pipeta clase A de 5.0 mL Brand y del balón aforado de 100 mL Brand.

- Incertidumbre estándar por la tolerancia de la pipeta de 5.0 mL

La tolerancia reportada por el fabricante es de ± 0.0400 mL y asumiendo una distribución triangular, la incertidumbre está dada por:

$$U_{10} = \frac{0.0400}{\sqrt{3}} = 2.309E^{-2}$$

- Incertidumbre estándar por el efecto de la temperatura

$$U_{11} = \frac{(3) * (2E^{-4}) * (5.0)}{\sqrt{3}} = 1.732E^{-3}$$

- Incertidumbre combinada asociada a la pipeta de 5.0 mL

$$U_{c5} = \sqrt{(U_{10})^2 + (U_{11})^2} = \sqrt{(2.309E^{-2})^2 + (1.732E^{-3})^2} = 2.315E^{-2}$$

- Incertidumbre estándar relativa asociada a la pipeta de 5.0 mL

$$U_{ER8} = \frac{U_{c4}}{5.0} = \frac{1.2055E^{-2}}{5.0} = 4.631E^{-3}$$

- Incertidumbre estándar relativa asociada al balón aforado de 100 mL

Ya fue estimada anteriormente donde se obtuvo

$$U_{ER4} = 0.6733E^{-3}$$

- Incertidumbre estándar relativa asociada al tercer factor de dilución.

$$U_{ER9} = \sqrt{(U_{ER8})^2 + (U_{ER4})^2} = \sqrt{(4.631E^{-3})^2 + (0.6733E^{-3})^2} = 4.6797E^{-3}$$

- **Incertidumbre estándar relativa asociada a la preparación de los patrones para la curva de calibración.**

$$U_{ER10} = \sqrt{(U_{ER2})^2 + (U_{ER5})^2 + (U_{ER7})^2 + (U_{ER9})^2}$$

$$U_{ER10} = \sqrt{(1.1547E^{-3})^2 + (1.337E^{-3})^2 + (1.381E^{-3})^2 + (4.6797E^{-3})^2}$$

$$U_{ER10} = 5.1892E^{-3}$$

- Incertidumbre estándar debida a la respuesta del Hydra C al leer la absorbancia de los patrones

Para una ecuación de tipo $y = m\alpha + b$

Despejamos la componente que corresponde a la concentración como se muestra en la ecuación.

α = Cantidad de analito

$$\gamma = \text{Respuesta del instrumento} \quad \alpha = \frac{(\gamma - b)}{m}$$

b = La ordenada al origen

m = La pendiente calculada

En la Tabla 3.5 se muestra un diseño típico experimental .para la estimación de la incertidumbre, se realizó una curva de calibración con i concentraciones y j repeticiones con lo que se hace un arreglo α_i, γ_j .

Tabla 3.5 Diseño experimental elaborado para la curva de calibración (Eurachem/CITAC, 2012).

Curvas de calibración					
Concentración		γ_1	γ_2		γ_j
	α_1	α_1, γ_1			
	α_2				
	⋮				
	α_i				α_i, γ_j

Para el diseño experimental con i=6 y j=3, se determinó m y b, por medio de un ajuste de mínimos cuadrados.

$$m = 15558,5011 \text{ y } b = 426,0098$$

Con los datos obtenidos, en la elaboración de la ecuación de la curva de calibración, se estimó la incertidumbre, en la concentración del elemento químico

a medir “ α ”, con base al cálculo de regresión lineal de la curva de calibración con una respuesta “ γ ”. Como se muestra en la ecuación.

$$U_{\gamma} = \frac{S}{m} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(\alpha - \bar{\alpha}_{MRC})^2}{S_{xx}}}$$

U_{γ} Incertidumbre del mensurado obtenida con el instrumento calibrado

S Desviación estándar residual del cálculo de regresión lineal

m Pendiente calculada

p El número de réplicas de la muestra en estudio

n Número de puntos en la curva de calibración, multiplicada por el número de réplicas “ $i*j$ ”.

α La cantidad en estudio

$\bar{\alpha}_{MRC}$ Valor medio de las cantidades en los patrones de la calibración

S_{xx} Suma de cuadrados de los residuales de las concentraciones

Se obtiene:

$$U_{12} = 0.1177$$

La desviación estándar residual está dada por:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n (\gamma_j - (m\alpha + b))^2}{n-2}} \text{ y } S_{xx} = \sum_{j=1}^n (\alpha_i - \bar{\alpha})^2$$

Donde:

γ_j Las j lecturas observadas

$m\alpha + b$ Las j lecturas ajustadas

α_i Las i cantidades de Hg usadas en la curva de calibración

$\bar{\alpha}$ Cantidad de Hg media en la curva de calibración

- Incertidumbre estándar relativa asociada a la respuesta del Hydra C al leer la microabsorbancia de los patrones.

Se obtuvo dividiendo la incertidumbre estándar debida a la curva de calibración entre la cantidad de mercurio (Hg ng) en 0.600 mL de E₁.

$$U_{ER11} = U_{12} / 8.258 = 0.1177 / 8.258 = 0,014249$$

- Incertidumbre estándar relativa debida a la curva de calibración

Se obtiene a partir de la incertidumbre estándar relativa asociada a la preparación de los patrones y a la incertidumbre estándar relativa asociada a la lectura de los patrones.

$$U_{ER12} = \sqrt{(U_{ER10})^2 + (U_{ER11})^2} = \sqrt{(5.1892E^{-3})^2 + (1.4249E^{-2})^2} = 1.5164E^{-2}$$

- **Incertidumbre combinada mercurio total en aguas rango bajo**

$$U_{C\ rango\ bajo} = \sqrt{(U_{ER1})^2 + (U_{ER12})^2}$$

$$U_{C\ rango\ bajo} = \sqrt{(4.92E^{-6})^2 + (1.5164E^{-2})^2} = 1.5164E^{-2}$$

- **Incertidumbre expandida mercurio total en aguas rango bajo**

Para un factor de cobertura K = 2 del 95,45 %

$$U_{EXP} = \pm U_{C\ rango\ bajo} * K = \pm 1.4424E^{-2} * 2 = \pm 3.0329E^{-2}$$

- **Estimación de incertidumbre expandida del analito C**

$$U = C \left(\frac{\mu g}{L} \right) * U_{EXP}$$

- **Expresión del resultado mercurio total en aguas rango bajo**

El resultado se expresa como

$$C \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{L}} \right) \pm U \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{L}} \right)$$

3.2.2 Estimación incertidumbre mercurio total en aguas rango alto

Volumen de muestra

➤ Incertidumbre estándar relativa asociada al volumen de muestra

La incertidumbre estándar relativa del volumen de muestra ya fue estimada para el rango bajo debido a que se usó el mismo volumen e instrumento.

$$U_{ER1} = 4.92E^{-6}$$

Curva de calibración

➤ Incertidumbre estándar asociada al material de referencia certificado.

El certiPur de 1000 mg Hg/L Merck trazable a la NIST, reporta una incertidumbre de ± 2 mg/L. Asumiendo distribución rectangular.

$$U_3 = \frac{2}{\sqrt{3}} = 1.1547$$

➤ Incertidumbre estándar relativa asociada al material de referencia certificado.

Se obtiene dividiendo la incertidumbre estándar por el valor de concentración del material de referencia certificado empleado para elaborar la curva de calibración.

$$U_{ER2} = \frac{U_3}{1000} = \frac{1.1547}{1000} = 1.1547E^{-3}$$

- Incertidumbre estándar relativa asociada al primer factor de dilución (solución 10 mg/L)

Esta incertidumbre fue estimada para mercurio total en aguas rango bajo

$$U_{ER5} = 1.337E^{-3}$$

- Incertidumbre estándar relativa asociada al segundo factor de dilución (1.0 mg/L).

Esta incertidumbre fue estimada para rango bajo.

$$U_{ER7} = 1.381E^{-3}$$

- **Incertidumbre estándar relativa asociada a la preparación de los patrones para la curva de calibración.**

$$U_{ER10} = \sqrt{(U_{ER2})^2 + (U_{ER5})^2 + (U_{ER7})^2}$$

$$U_{ER10} = \sqrt{(1.1547E^{-3})^2 + (1.337E^{-3})^2 + (1.381E^{-3})^2}$$

$$U_{ER10} = 2.2423E^{-3}$$

- Incertidumbre estándar debida a la respuesta del Hydra C al leer la absorbancia de los patrones

Para una ecuación de tipo $\gamma = m\alpha + b$

Despejamos la componente que corresponde a la concentración como se muestra en la ecuación.

$$\alpha = \frac{(\gamma - b)}{m}$$

En la Tabla 3.5 se muestra un diseño típico experimental .para la estimación de la incertidumbre, se realizó una curva de calibración con i concentraciones y j repeticiones con lo que se hace un arreglo α_i, γ_j .

Para el diseño experimental con i=6 y j=3, se determinó m y b, por medio de un ajuste de mínimos cuadrados.

$$m = 1140,0570, b = -3779,3858$$

Con los datos obtenidos, en la elaboración de la ecuación de la curva de calibración, se estimó la incertidumbre, en la concentración del elemento químico a medir " α ", con base al cálculo de regresión lineal de la curva de calibración con una respuesta " γ ". Como se muestra en la ecuación.

$$U_{\gamma} = \frac{S}{m} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(\alpha - \bar{\alpha}_{MRC})^2}{S_{xx}}}$$

Se obtiene:

$$U_{12} = 2.1355$$

La desviación estándar residual está dada por:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n (\gamma_j - (m\alpha + b))^2}{n-2}} \text{ y } S_{xx} = \sum_{j=1}^n (\alpha_i - \bar{\alpha})^2$$

- Incertidumbre estándar relativa asociada a la respuesta del Hydra C al leer la microabsorbancia de los patrones.

Se obtuvo dividiendo la incertidumbre estándar debida a la curva de calibración entre la cantidad de mercurio (Hg ng) en 0.600 mL de E₂

$$U_{ER11} = U_{12} / 167.120 = 2.1355 / 167.20 = 0,01278$$

- Incertidumbre estándar relativa debida a la curva de calibración

Se obtiene a partir de la incertidumbre estándar relativa asociada a la preparación de los patrones y a la incertidumbre estándar relativa asociada a la lectura de los patrones.

$$U_{ER12} = \sqrt{(U_{ER10})^2 + (U_{ER11})^2} = \sqrt{(2.2423E^{-3})^2 + (1.278E^{-2})^2} = 1.2974E^{-2}$$

- **Incertidumbre combinada mercurio total en aguas rango alto**

$$U_{C\ rango\ alto} = \sqrt{(U_{ER1})^2 + (U_{ER12})^2}$$

$$U_{C\ rango\ alto} = \sqrt{(4.92E^{-6})^2 + (1.2974E^{-2})^2} = 1.2974E^{-2}$$

- **Incertidumbre expandidamercurio total en aguas rango alto**

Para un factor de cobertura K =2 del 95,45 %

$$U_{EXP} = \pm U_{C\ rango\ alto} * K = \pm 1.2974E^{-2} * 2 = \pm 2.5947E^{-2}$$

- **Estimación de incertidumbre expandida del analito C**

$$U = C \left(\frac{\mu g}{L} \right) * U_{EXP}$$

- **Expresión del resultadomercurio total en aguas rango alto**

El resultado se expresa como

$$C \left(\frac{\mu g}{L} \right) \pm U \left(\frac{\mu g}{L} \right)$$

3.2.3 Estimación incertidumbre mercurio total en suelos rango bajo

Masa de muestra

Se estimó la incertidumbre aportada al medir la masa de la muestra. Para este aporte se tuvo en cuenta la incertidumbre dada por la división de escala

- Incertidumbre estándar asociada a la división de la escala de la balanza

División de escala 0.001 g
$$U_1 = \frac{0.001}{\sqrt{3}} = 5.77E^{-4}$$

- **Incertidumbre estándar relativa asociada a la masa de muestra**

La incertidumbre estándar relativa de la masa de muestra está dada por el cociente entre la incertidumbre combinada y la masa de muestra.

$$U_{ER1} = \frac{U_{C1}}{0.100} = \frac{5.77E^{-4}}{0.100} = 5.77E^{-3}$$

Curva de calibración

- **Incertidumbre estándar relativa asociada a la preparación de los patrones para la curva de calibración.**

La curva de calibración de rango bajo para suelos es la misma que la empleada para rango bajo aguas, por esta razón la incertidumbre asociada a la preparación de los patrones para la curva de calibración es la misma.

$$U_{ER10} = \sqrt{(U_{ER2})^2 + (U_{ER5})^2 + (U_{ER7})^2 + (U_{ER9})^2}$$

$$U_{ER10} = \sqrt{(1.1547E^{-3})^2 + (1.337E^{-3})^2 + (1.381E^{-3})^2 + (4.6797E^{-3})^2}$$

$$U_{ER10} = 5.1892E^{-3}$$

- **Incertidumbre estándar debida a la respuesta del Hydra C al leer la absorbancia de los patrones.**

Para una ecuación de tipo $\gamma = m\alpha + b$

Despejamos la componente que corresponde a la concentración como se muestra en la ecuación.

$$\alpha = \frac{(\gamma - b)}{m}$$

En la Tabla 3.5 se muestra un diseño típico experimental .para la estimación de la incertidumbre, se realizó una curva de calibración con i concentraciones y j repeticiones con lo que se hace un arreglo α_i, γ_j .

Para el diseño experimental con i=6 y j=3, se determinó m y b, por medio de un ajuste de mínimos cuadrados.

$$m = 15558,5011 \text{ y } b = 426,0098$$

Con los datos obtenidos, en la elaboración de la ecuación de la curva de calibración, se estimó la incertidumbre, en la concentración del elemento químico a medir “ α ”, con base al cálculo de regresión lineal de la curva de calibración con una respuesta “ γ ”. Como se muestra en la ecuación.

$$U_{\gamma} = \frac{S}{m} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(\alpha - \bar{\alpha}_{MRC})^2}{S_{xx}}}$$

Se obtiene:

$$U_{12} = 0.0973$$

La desviación estándar residual está dada por:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n (\gamma_j - (m\alpha + b))^2}{n-2}} \text{ y } S_{xx} = \sum_{j=1}^n (\alpha_i - \bar{\alpha})^2$$

- Incertidumbre estándar relativa asociada a la respuesta del Hydra C al leer la microabsorbancia de los patrones.

Se obtuvo dividiendo la incertidumbre estándar debida a la curva de calibración entre la cantidad de mercurio (Hg ng) en 0.100 g de muestra de SU₁.

$$U_{ER11} = \frac{U_{12}}{3.492} = \frac{0.0973}{3.492} = 0.02785$$

- Incertidumbre estándar relativa debida a la curva de calibración

$$U_{ER12} = \sqrt{(U_{ER10})^2 + (U_{ER11})^2} = \sqrt{(5.1892E^{-3})^2 + (2.785E^{-2})^2} = 2.833E^{-2}$$

- **Incertidumbre combinada mercurio total en suelos rango bajo**

$$U_{C\ rango\ bajo} = \sqrt{(U_{ER1})^2 + (U_{ER12})^2}$$

$$U_{C\ rango\ bajo} = \sqrt{(5.77E^{-3})^2 + (2.833E^{-2})^2} = 2.891E^{-2}$$

- **Incertidumbre expandida mercurio total en suelos rango bajo**

Para un factor de cobertura K =2 del 95,45 % de confianza

$$U_{EXP} = \pm U_{C\ rango\ bajo} * K = \pm 2.891E^{-2} * 2 = \pm 0.0578$$

- **Estimación de incertidumbre expandida del analito C**

$$U = C \left(\frac{\mu g}{Kg} \right) * U_{EXP}$$

- **Expresión del resultado mercurio total en suelos rango bajo**

El resultado se expresa como

$$C \left(\frac{\mu g}{Kg} \right) \pm U \left(\frac{\mu g}{Kg} \right)$$

3.2.4 Estimación incertidumbre mercurio total en suelos rango alto

Masa de muestra

Se estimó la incertidumbre aportada al medir la masa de la muestra. Para este aporte se tuvo en cuenta la incertidumbre dada por la división de escala

- Incertidumbre estándar asociada a la división de la escala de la balanza

División de escala 0.001 g $U_1 = \frac{0.001}{\sqrt{3}} = 5.77E^{-4}$

- **Incertidumbre estándar relativa asociada a la masa de muestra**

La incertidumbre estándar relativa de la masa de muestra está dada por el cociente entre la incertidumbre asociada a la división de escala de la balanza y la masa de la muestra.

$$U_{ER1} = \frac{U_1}{0.400} = \frac{5.77E^{-4}}{0.400} = 1.442E^{-3}$$

Curva de calibración

La curva de calibración para suelos en rango alto es la misma empleada para aguas en rango alto la cual ya fue calculada anteriormente.

- **Incertidumbre estándar relativa asociada al material de referencia certificado.**

$$U_{ER2} = \frac{U_3}{1000} = \frac{1.1547}{1000} = 1.1547E^{-3}$$

- **Incertidumbre estándar relativa asociada a la preparación de los patrones para la curva de calibración.**

$$U_{ER10} = \sqrt{(U_{ER2})^2 + (U_{ER5})^2 + (U_{ER7})^2}$$

$$U_{ER10} = \sqrt{(1.1547E^{-3})^2 + (1.337E^{-3})^2 + (1.381E^{-3})^2}$$

$$U_{ER10} = 2.2423E^{-3}$$

- Incertidumbre estándar debida a la respuesta del Hydra C al leer la absorbancia de los patrones

Para una ecuación de tipo $\gamma = m\alpha + b$

Despejamos la componente que corresponde a la concentración como se muestra en la ecuación.

$$\alpha = \frac{(\gamma - b)}{m}$$

En la Tabla 3.5 se muestra un diseño típico experimental .para la estimación de la incertidumbre, se realizó una curva de calibración con i concentraciones y j repeticiones con lo que se hace un arreglo α_i, γ_j .

Para el diseño experimental con i=6 y j=3, se determinó m y b, por medio de un ajuste de mínimos cuadrados.

$$m = 1140,0570 ,b = -3779,3858$$

Con los datos obtenidos, en la elaboración de la ecuación de la curva de calibración, se estimó la incertidumbre, en la concentración del elemento químico a medir “ α ”, con base al cálculo de regresión lineal de la curva de calibración con una respuesta “ γ ”. Como se muestra en la ecuación.

$$U_{\gamma} = \frac{S}{m} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(\alpha - \bar{\alpha}_{MRC})^2}{S_{xx}}}$$

Se obtiene:

$$U_{12} = 1.8469$$

La desviación estándar residual está dada por:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n (\gamma_j - (m\alpha + b))^2}{n-2}} \text{ y } S_{xx} = \sum_{j=1}^n (\alpha_i - \bar{\alpha})^2$$

- Incertidumbre estándar relativa asociada a la respuesta del Hydra C al leer la microabsorbancia de los patrones.

Se obtuvo dividiendo la incertidumbre estándar debida a la curva de calibración entre la cantidad de mercurio (Hg ng) en 0.400 g de muestra de SU_2 .

$$U_{ER11} = \frac{U_{12}}{72.44} = \frac{1.8469}{72.44} = 2.550E^{-2}$$

- Incertidumbre estándar relativa debida a la curva de calibración

$$U_{ER12} = \sqrt{(U_{ER10})^2 + (U_{ER11})^2} = \sqrt{(2.242E^{-3})^2 + (2.550E^{-2})^2} = 2.560E^{-2}$$

- **Incertidumbre combinada mercurio total en suelos rango alto**

$$U_{C \text{ rango alto}} = \sqrt{(U_{ER1})^2 + (U_{ER12})^2}$$

$$U_{C \text{ rango alto}} = \sqrt{(1.442E^{-3})^2 + (2.560E^{-2})^2} = 2.564E^{-2}$$

- **Incertidumbre expandida mercurio total en suelos rango alto**

Para un factor de cobertura $K = 2$ del 95,45 %

$$U_{EXP} = \pm U_{C \text{ rango alto}} * K = \pm 2.564E^{-2} * 2 = \pm 0.0513$$

- **Estimación de incertidumbre expandida de la concentración C**

$$U = C \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{Kg}} \right) * U_{\text{EXP}}$$

- **Expresión del resultado mercurio total en suelos rango alto**

El resultado se expresa como

$$C \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{Kg}} \right) \pm U \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{Kg}} \right)$$

3.2.5 Estimación incertidumbre mercurio total en sedimentos rango bajo

Masa de muestra

Se estimó la incertidumbre aportada al medir la masa de la muestra.

- **Incertidumbre estándar asociada a la división de la escala de la balanza**

División de escala 0.001 g $U_1 = \frac{0.001}{\sqrt{3}} = 5.77E^{-4}$

- **Incertidumbre estándar relativa asociada a la masa de muestra**

La incertidumbre estándar relativa de la masa de muestra está dada por el cociente entre la incertidumbre asociada a la división de escala de la balanza y la masa de la muestra.

$$U_{ER1} = \frac{U_1}{0.05} = \frac{5.77E^{-4}}{0.05} = 1.154 E^{-2}$$

Curva de calibración

- **Incertidumbre estándar relativa asociada a la preparación de los patrones para la curva de calibración.**

La curva de calibración de rango bajo para sedimentos es la misma que la empleada para rango bajo aguas, por esta razón la incertidumbre asociada a la preparación de los patrones para la curva de calibración son los mismos.

$$U_{ER10} = \sqrt{(U_{ER2})^2 + (U_{ER5})^2 + (U_{ER7})^2 + (U_{ER9})^2}$$

$$U_{ER10} = \sqrt{(1.1547E^{-3})^2 + (1.337E^{-3})^2 + (1.381E^{-3})^2 + (4.6797E^{-3})^2}$$

$$U_{ER10} = 5.1892E^{-3}$$

- Incertidumbre estándar debida a la respuesta del Hydra C al leer la absorbancia de los patrones.

Para una ecuación de tipo $\gamma = m\alpha + b$

Despejamos la componente que corresponde a la concentración como se muestra en la ecuación.

$$\alpha = \frac{(\gamma - b)}{m}$$

En la Tabla 3.5 se muestra un diseño típico experimental .para la estimación de la incertidumbre, se realizó una curva de calibración con i concentraciones y j repeticiones con lo que se hace un arreglo α_i, γ_j .

Para el diseño experimental con i=6 y j=3, se determinó m y b, por medio de un ajuste de mínimos cuadrados.

$$m = 15558,5011 \text{ y } b = 426,0098$$

Con los datos obtenidos, en la elaboración de la ecuación de la curva de calibración, se estimó la incertidumbre, en la concentración del elemento químico a medir “ α ”, con base al cálculo de regresión lineal de la curva de calibración con una respuesta “ γ ”. Como se muestra en la ecuación.

$$U_{\gamma} = \frac{S}{m} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(\alpha - \bar{\alpha}_{MRC})^2}{S_{xx}}}$$

Se obtiene:

$$U_{12} = 0.0973$$

La desviación estándar residual está dada por:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n (\gamma_j - (m\alpha + b))^2}{n-2}} \text{ y } S_{xx} = \sum_{j=1}^n (\alpha_i - \bar{\alpha})^2$$

- Incertidumbre estándar relativa asociada a la respuesta del Hydra C al leer la microabsorbancia de los patrones.

Se obtuvo dividiendo la incertidumbre estándar debida a la curva de calibración entre la cantidad de mercurio (Hg ng) en 0.050 g de muestra de SE₁.

$$U_{ER11} = \frac{U_{12}}{4.071} = \frac{0.0973}{4.071} = 0.02390$$

- Incertidumbre estándar relativa debida a la curva de calibración

$$U_{ER12} = \sqrt{(U_{ER10})^2 + (U_{ER11})^2} = \sqrt{(5.189E^{-3})^2 + (2.390E^{-2})^2} = 2.446E^{-2}$$

- **Incertidumbre combinada mercurio total en sedimentos rango bajo**

$$U_{C\ rango\ bajo} = \sqrt{(U_{ER1})^2 + (U_{ER12})^2}$$

$$U_{C\ rango\ bajo} = \sqrt{(1.154\ E^{-2})^2 + (2.446E^{-2})^2} = 2.705E^{-2}$$

- **Incertidumbre expandida mercurio total en sedimentos rango bajo**

Para un factor de cobertura K =2 del 95,45 % de confianza

$$U_{EXP} = \pm U_{C\ rango\ bajo} * K = \pm 2.705E^{-2} * 2 = \pm 0.0541$$

- **Estimación de incertidumbre expandida del analito C**

$$U = C \left(\frac{\mu g}{Kg} \right) * U_{EXP}$$

- **Expresión del resultado mercurio total en sedimentos rango bajo**

El resultado se expresa como

$$C \left(\frac{\mu g}{Kg} \right) \pm U \left(\frac{\mu g}{Kg} \right)$$

3.2.6 Estimación incertidumbre mercurio total en sedimentos rango alto

Masa de muestra

- Incertidumbre estándar asociada a la división de la escala de la balanza

División de escala 0.001 g $U_1 = \frac{0.001}{\sqrt{3}} = 5.77E^{-4}$

- **Incertidumbre estándar relativa asociada a la masa de muestra**

$$U_{ER1} = \frac{U_1}{0.200} = \frac{5.77E^{-4}}{0.200} = 2.885E^{-3}$$

Curva de calibración

La curva de calibración para sedimentos en rango alto es la misma empleada para aguas en rango alto la cual ya fue calculada anteriormente.

- **Incertidumbre estándar relativa asociada al material de referencia certificado.**

$$U_{ER2} = \frac{U_3}{1000} = \frac{1.1547}{1000} = 1.1547E^{-3}$$

- **Incertidumbre estándar relativa asociada a la preparación de los patrones para la curva de calibración.**

$$U_{ER10} = \sqrt{(U_{ER2})^2 + (U_{ER5})^2 + (U_{ER7})^2}$$

$$U_{ER10} = \sqrt{(1.1547E^{-3})^2 + (1.337E^{-3})^2 + (1.381E^{-3})^2}$$

$$U_{ER10} = 2.242E^{-3}$$

- Incertidumbre estándar debida a la respuesta del Hydra C al leer la absorbancia de los patrones

Para una ecuación de tipo $\gamma = m\alpha + b$

Despejamos la componente que corresponde a la concentración como se muestra en la ecuación.

$$\alpha = \frac{(\gamma - b)}{m}$$

En la Tabla 3.5 se muestra un diseño típico experimental .para la estimación de la incertidumbre, se realizó una curva de calibración con i concentraciones y j repeticiones con lo que se hace un arreglo α_i, γ_j .

Para el diseño experimental con i=6 y j=3, se determinó m y b, por medio de un ajuste de mínimos cuadrados.

$$m = 1140,0570, b = -3779,3858$$

Con los datos obtenidos, en la elaboración de la ecuación de la curva de calibración, se estimó la incertidumbre, en la concentración del elemento químico a medir " α ", con base al cálculo de regresión lineal de la curva de calibración con una respuesta " γ ". Como se muestra en la ecuación.

$$U_{\gamma} = \frac{S}{m} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(\alpha - \bar{\alpha}_{MRC})^2}{S_{xx}}}$$

Se obtiene:

$$U_{12} = 1.7974$$

La desviación estándar residual está dada por:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n (\gamma_j - (m\alpha + b))^2}{n-2}} \text{ y } S_{xx} = \sum_{j=1}^n (\alpha_i - \bar{\alpha})^2$$

- Incertidumbre estándar relativa asociada a la respuesta del Hydra C al leer la microabsorbancia de los patrones.

Se obtuvo dividiendo la incertidumbre estándar debida a la curva de calibración entre la cantidad de mercurio en 0.200 g de muestrade SE₂.

$$U_{ER11} = \frac{U_{12}}{100.6} = \frac{1.7974}{100.6} = 1.787E^{-2}$$

- Incertidumbre estándar relativa debida a la curva de calibración

$$U_{ER12} = \sqrt{(U_{ER10})^2 + (U_{ER11})^2} = \sqrt{(2.242E^{-3})^2 + (1.787E^{-2})^2} = 1.801E^{-2}$$

- **Incertidumbre combinada mercurio total en sedimentos rango alto**

$$U_{C\ rango\ alto} = \sqrt{(U_{ER1})^2 + (U_{ER12})^2}$$

$$U_{C\ rango\ alto} = \sqrt{(2.885E^{-3})^2 + (1.801E^{-2})^2} = 1.824E^{-2}$$

- **Incertidumbre expandida mercurio total en sedimentos rango alto**

Para un factor de cobertura $K = 2$ del 95,45 %

$$U_{EXP} = \pm U_{C\ rango\ alto} * K = \pm 1.824E^{-2} * 2 = \pm 0.0365$$

- **Estimación de incertidumbre expandida de la concentración C**

$$U = C \left(\frac{\mu g}{Kg} \right) * U_{EXP}$$

- **Expresión del resultado mercurio total en sedimentos rango alto**

El resultado se expresa como

$$C \left(\frac{\mu g}{Kg} \right) \pm U \left(\frac{\mu g}{Kg} \right)$$

3.3 MUESTREO

La metodología empleada para la toma de muestras en las matrices agua, suelos y sedimentos, garantiza la representatividad de las muestras recolectadas.

En la Tabla 3.6 se reportan los puntos de muestreo seleccionados con sus respectivas coordenadas, el orden en el que fueron tomadas las muestras (con el fin de evitar contaminaciones cruzadas) y en la Figura 3.8 se da una idea general de la ubicación de los puntos muestreados.

Tabla 3. 6. Puntos de muestreo seleccionados para la toma de muestras

Orden muestreado	Punto de muestreo	Coordenadas		Altitud
		Norte	Este	
1	SA-03	1 283 144	1 106 774	734
2	RT - 01	1 283 135	1 109 069	878
3	SA – RT - 01	1 283 136	1 109 058	881
4	RCH - 01	1 297 054	1 115 981	1391
5	SA - 05	1 297 202	1 116 170	1393
6	SA – 06	1 305 018	1 120 447	1652
7	SA - Puente Paneca	1 304 673	1 120 299	1638
8	RV - 01	1 305 051	1 120 505	1649



Figura 3.8 Puntos seleccionados para la toma de muestras (Adaptado de WOLFF, 2001).

3.4 EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE MERCURIO TOTAL

Todas las muestras en las diferentes matrices fueron analizadas por duplicado y como criterio de aceptación se utilizó el porcentaje de diferencia relativa (RPD) y el criterio de aceptación usado para rechazo de duplicados se encuentra en la Tabla 3.7.

Tabla 3.7Valores de RPD máximos permitidos

ppb	RPD
<10	15
10 -1000	10
>1000	5

3.4.1 Mercurio total en el río Suratá y sus confluencias

Como se muestra en la Tabla 3.8, la concentración de mercurio en las aguas del ríos Suratá y sus confluencia se encuentran por debajo de la mínima concentración cuantificable del método, lo cual demuestra que los controles que se realizan en la zona por parte de la autoridad ambiental para minimizar el uso de mercurio para la obtención de oro por amalgamación y las metodologías empleadas para la pequeña minería en los municipios de Vetás y California, por parte del convenio Colombo-Alemán proyecto río Suratá dieron buenos resultados.

Tabla 3.8 Concentración de mercurio en las aguas muestreadas

Punto de muestreo	Concentración de mercurio*	RPD
	µg/L	(%)
SA-03	<0,50	-
RT - 01	<0,50	-
SA – RT - 01	<0,50	-
RCH - 01	<0,50	-
SA - 05	<0,50	-
SA – 06	<0,50	-
SA – Puente Paneca	<0,50	-
RV - 01	<0,50	-
* promedio (replicas por muestra =2)		

Las aguas superficiales del río Suratá y sus confluencias Vetás, Charta y Tona, se encuentran dentro del criterio establecido en los artículos 38 y 39 del Decreto 1594/84 del Ministerio de Salud, donde se establece 2.0 µg Hg/L como criterio de calidad admisible para la destinación del recurso para consumo humano y doméstico, previo tratamiento convencional, artículo 41 del Decreto 1594/84 donde se establece 10 µg Hg/L como criterio de calidad admisible para la destinación del recurso para uso pecuario, ver figura 3.9.

Los niveles de mercurio en el agua superficial se encuentran por debajo de la normatividad ambiental, por lo anterior no se ve la necesidad de plantear alternativas para disminución de impacto ambiental, se recomienda continuar con los controles existentes.

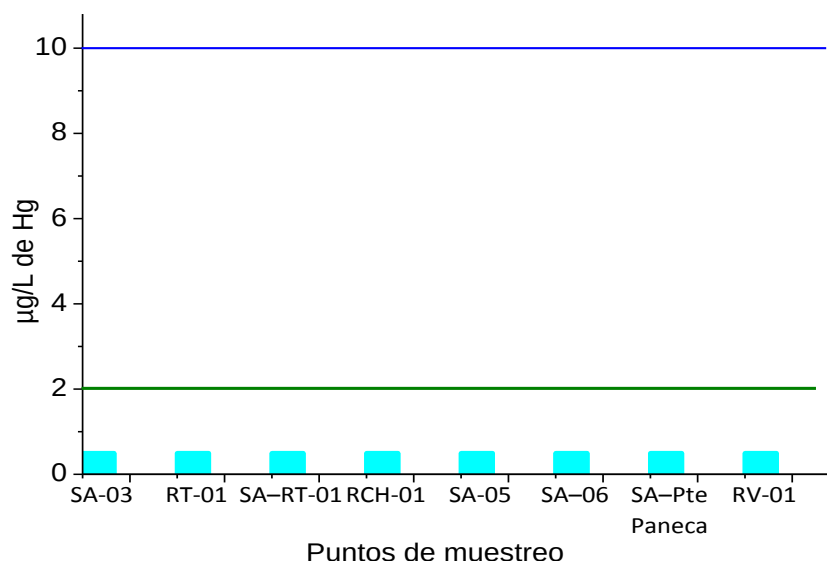


Figura 3.9 Diagrama de barras que representa la concentración de Hg en los diferentes puntos de muestreo

3.4.2 Mercurio total en sedimentos del río Suratá y sus confluencias

Como se muestra en la Tabla 3.9, el mercurio es depositado en los sedimentos lo cual concuerda con la literatura, se puede observar que los sedimentos de mayor contaminación son RV-01 río Vetás antes de la confluencia con el río Suratá y SA – Puente Paneca río Suratá metros debajo de la confluencia con el río Vetás, debido a que sobre el río Vetás y sus confluencias son realizadas las descargas de mercurio empleado en la obtención de oro por amalgamación.

En Colombia, la legislación ambiental no decreta límites máximos de contaminantes para este tipo de matrices (sedimentos), por lo que se hace necesario tomar como referencia las regulaciones ambientales internacionales. Para el presente estudio, los resultados obtenidos se evalúan de acuerdo a la norma Canadian Sediment Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life, Ontario, 2002. En esta normatividad se estipulan los criterios de calidad de acuerdo a tres niveles de efectos ecotóxicos, basados en los efectos crónicos y a largo plazo que los contaminantes pueden tener sobre los organismos que habitan en los sedimentos: No effect level, Lowest effect level y Severe effect level.

Tabla 3.9Concentración de mercurio en los sedimentos muestreados

Punto de muestreo	Concentración de mercurio*	RPD
	µg /Kg	(%)
SA-03	98.5 ± 5.3	7.11
RT - 01	32.6 ± 1.8	3.72
SA – RT - 01	50.0 ± 2.7	4.41
RCH - 01	36.9 ± 2.0	0.44
SA - 05	276 ± 15	2.98
SA – 06	81.9 ± 4.4	4.50
SA – Puente Paneca	1944 ± 71	1.86
RV - 01	2006 ± 73	2.05

*promedio ± U (replicas por muestra =2)

Según esta normatividad los puntos SA-03, RT-01, RCH-01, SA-RT-01 y SA-06, se encuentran en un nivel sin efecto, el mercurio en los sedimentos es bajo y no presenta efectos tóxicos sobre los organismos que allí viven, no hay transferencia de productos químicos a través de la cadena alimentaria, y por tanto, no se espera efecto sobre la calidad del agua.

El punto SA-05 se encuentra en un nivel de bajo efecto, indicando un nivel de contaminación que puede ser tolerado por la mayoría de los organismos que viven en los sedimentos. Por encima de este nivel, puede afectarse el uso de los sedimentos por parte de algunos organismos bentónicos.

Los puntos SA – Puente Paneca y RV-01, se encuentra en un nivel de efecto severo, indicando un nivel de contaminación que se espera sea perjudicial para la mayoría de los organismos presentes en los sedimentos; estos sedimentos son considerados contaminados.

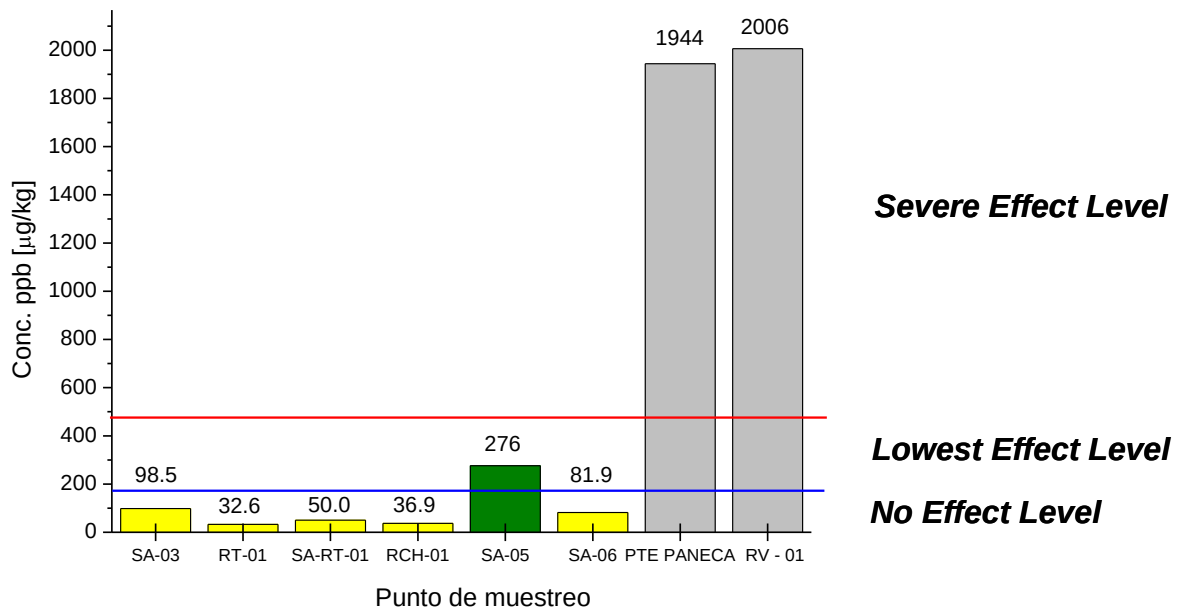


Figura 3.10 Diagrama de barras que representa la concentración de Hg en los diferentes puntos de muestreo

Los resultados muestran una disminución del 86% en la concentración de mercurio entre los puntos SA – Puente Paneca y SA-05, por lo cual no se ve necesario plantear alternativas para disminución del impacto ambiental, adicionalmente los contenidos de los puntos aguas debajo del punto SA-05 tienen un nivel de contaminación sin efectos tóxicos.

3.4.3 Mercurio total en suelos aledaños al río Suratá y sus confluencias

Como es bien sabido, el mercurio en sus estados Hg^0 y Hg^{+2} puede ser transportado por el viento a grandes distancias e incorporado nuevamente al suelo por la acción de la lluvia (Silvério et al, 2006). Esta premisa explica porque los suelos aledaños al río Suratá registraron considerables aportes de mercurio (Ver Figura 3.10, teniendo en cuenta que en años anteriores la minería artesanal era descontrolada ocasionando grandes emisiones de mercurio a la atmosfera. Adicionalmente, un estudio de la universidad industrial de Santander (Muños, 2006) demostró que las emisiones de mercurio medidas en el humo de

combustión de un vehículo es 50 ng/m³, superando los niveles de mercurio en espacio abierto (0.5 a 5 ng/m³), lo cual puede ser un foco de contaminación para estos suelos, debido a que la carretera de acceso al municipio de Suratá es muy cercana al río y en especial en los puntos donde se tomaron las muestras.

Tabla 3. 10 Concentración de mercurio en los suelos muestreados

Punto de muestreo	Concentración de mercurio*	RPD
	µg/Kg	(%)
SA-03	82.1 ± 4.7	0.63
RT - 01	42.0 ± 2.4	7.44
SA – RT - 01	67.7 ± 3.9	4.42
RCH - 01	31.4 ± 1.8	5.00
SA - 05	174 ± 8.9	4.45
SA – 06	68.5 ± 4.0	5.78
SA – Puente Paneca	360 ± 18.5	1.65
RV - 01	364 ± 21.1	5.43
*promedio ± U (replicas por muestra =2)		

Considerando que la legislación ambiental en Colombia no decreta límites máximos de contaminantes para suelos, se hace necesario tomar como referencia las regulaciones ambientales internacionales. Por consiguiente, los resultados obtenidos de la evaluación de mercurio en suelos aledaños al río Suratá, se evalúan de acuerdo a la norma estadounidense *Louisiana Administrative Code 29B Natural Resources*, capítulo 3, donde se establecen los criterios para el almacenamiento, tratamiento y disposición de residuos no peligrosos generados de operaciones de exploración y producción de pozos de petróleo y gas. Basados en esta normatividad las concentraciones obtenidas se encuentran muy por debajo del valor de la norma 10000 µg/Kg.

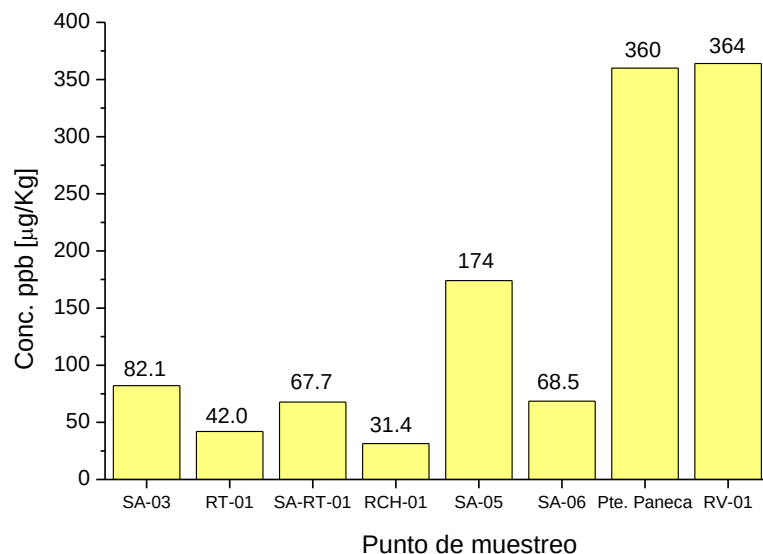


Figura 3.101 Evaluación de mercurio total en suelos aledaños al río Surata y sus confluencias.

Valores reportados en la literatura de concentraciones de mercurio en suelos no contaminados demuestran que los valores encontrados en el presente trabajo se encuentran dentro de los niveles de suelos no contaminados (**Tabla 3.11**), sin embargo es notable que en los suelos tomados de los puntos SA-03, SA-05, puente Paneca y RV-01 tienen la mayor concentración de mercurio, estas acumulaciones se presentan debido a que estos puntos se encuentran aledaños al río Surata después de la confluencia con el río Vetas y cuando se desborda el río de su cauce este arrastra cantidades significativas de mercurio a los suelos aledaños por inundación.

Tabla 3. 11 Concentraciones de mercurio en suelos no contaminados (Muñoz, 2006)

Ciudad y/o país	Concentración de mercurio
	µg/Kg
Palermo (Siria), Italia	66
Estados Unidos	40 - 280
Chongqing, China	233
China (Noreste)	37
Nivel mundial	50 – 100
Nivel mundial	20 - 410

Los niveles de mercurio en los suelos aledaños al río Suratá se encuentran dentro de los rangos de suelos no contaminados, lo cual indica que son niveles de mercurios propios del subsuelo o que el grado de contaminación por la dispersión del mercurio en el aire es bajo, por lo anterior no se ve la necesidad de plantear alternativas para disminución de impacto ambiental, se recomienda continuar con los controles existentes.

4. CONCLUSIONES

1. La validación interna permitió cuantificar y evaluar experimentalmente las Figuras de mérito que dan confianza a los métodos analíticos. El límite de detección, límite de cuantificación, linealidad, sensibilidad, precisión, exactitud e incertidumbre, permitieron demostrar que las metodologías pueden ser usadas para la cuantificación de Hg en muestras de aguas, suelos y sedimentos.
2. En la evaluación de la linealidad del rango de validación escogido, se demostró la correlación lineal que existe entre la microabsorbancia y la cantidad de analito en la muestra.
3. Del cálculo de la incertidumbre se puede concluir que la mayor fuente de incertidumbre en la cuantificación de Hg en las tres matrices está asociada a la elaboración y lectura de la curva de calibración.
4. Se determinaron los límites de detección y cuantificación para el analizador de mercurio
5. Los análisis de Hg realizados por la técnica de descomposición termica presentan coeficientes de variación inferiores al 10 % lo que indica que los resultados presentan una baja dispersión y son por tanto precisos. Se realizó el cálculo de los porcentajes de recuperación para los diferentes dopajes de aguas, suelos y sedimentos, obteniéndose valores en el rango de 80 a 120 % de recuperación, lo que indica que la metodología es exacta y no presenta errores sistemáticos.

6. La técnica de descomposición térmica usando el equipos Hydra C presenta las siguientes ventajas frente a la técnica de HG-AAS implementada en el laboratorio de aguas y suelos de la CDMB:
 - ✓ Requiere menor cantidad de muestra
 - ✓ No requiere una digestión química de la muestra, proceso que consume tiempo y en el cual se puede contaminar la muestra o perder el mercurio.
 - ✓ No hay necesidad del uso de reactivos químicos durante el análisis.
 - ✓ No hay desechos agresivos.
 - ✓ Tiempos de análisis más cortos
 - ✓ Bajos costos de operación
 - ✓ Fácil manejo de equipo
7. El agua del río Suratá se encuentra libre de contaminación de mercurio de acuerdo a los límites permisibles de la legislación Colombiana, decreto 1594/1984.
8. Los suelos aledaños al río Suratá se encuentran libres de contaminación de acuerdo a la literatura reportada.
9. Los sedimentos en los puntos SA-03, RT-01, RCH-01, SA-RT-01 y SA-06 se encuentran libres de contaminación, el punto SA-05 tiene un nivel de contaminación tolerable por la mayoría de los organismos que viven en los sedimentos y los puntos SA-PtePaneca y RV-01 son sedimentos contaminados.

5. RECOMENDACIONES

Para minimizar el costo del análisis de mercurio en las tres matrices se debe emplear aire como gas auxiliar.

Participar en las pruebas interlaboratorio que ofrece el IDEAM para mercurio en suelos y sedimentos, con el fin de cumplir el requisito para la acreditación.

6. BIBLIOGRAFÍA

- ACUEDUCTO METROPOLITANO DE BUCARAMANGA, AMB, Fuentes del agua [En línea] <<http://www.amb.com.co/frmlInformacion.aspx?inf=33>>, [citado en 8 de agosto de 2012].
- BALL, M.M.; CARRERO, P.; CASTRO, D. & YARZABAL, L.A., Mercury resistance in bacterial strains isolated from tailing ponds in a gold mining area near El Callao (Bolívar State, Venezuela). *Curr Microbiol.* **54**(2): 149, 2007.
- BARR, R et al. Nephrotic syndrome in adult Africans in Nairobi. En: *Br Med J.* Vol. 1, (1972); p. 131–134.
- BARKAY, T. & WAGNER-DOBLER, I., Microbial transformations of mercury: Potentials, challenges, and achievements in controlling mercury toxicity in the environment. *Adv Appl Microbiol.* **57**: 1, 2005.
- BARKAY, T.; MILLER, S.M. & SUMMERS, A.O., Bacterial mercury resistance from atoms to ecosystems. *Fems Microbiol Rev.* **27**(2-3): 355, 2003.
- BORRIMANN G, HINKE G, ALFERS H, MULLMANN H. Ueter die enteraleresorption von metallischem quicksilver. . En: *ArchToxicol.* (1970); p. 26: 203–209 (abstract).
- CANO, Santiago. Toxicología del mercurio. Actuaciones preventivas en sanidad laboral y ambiental. Jornada internacional sobre el impacto ambiental del mercurio utilizado por la minería aurífera artesanal en iberoamerica. Peru, 2001.
- CASTILLO, B. GONZÁLES, R. Protocolo de validación de métodos analíticos para la cuantificación de fármacos. En: *Revista Cubana de Farmacia.* Vol. 3, No 1 (1996); p. 01-10.

- CATHUM, S.; VELICOGNA, D.; OBENAU, A.; DUMOUCHEL, A.; PUNT, M.; BROWN, C.E. & RIDAL, J., Detoxification of mercury in the environment. *Anal Bioanal Chem.* **381**(8): 1491, 2005.
- CORPORACION AUTONOMA REGIONAL PARA LA DEFENSA DE LA MESETA DE BUCARAMANGA, CDMB. Informe de la red de calidad de agua año 2010. p. 42.
- DASH, H.R. & DAS, S., Bioremediation of mercury and the importance of bacterial mer genes. *Int Biodeter Biodegr.* **75**: 207, 2012.
- ESSA, A.M.M.; MACASKIE, L.E. & BROWN, N.L., Mechanisms of mercury bioremediation. *Biochem Soc T.* **30**: 672, 2002.
- EUROCHEM/CITAC. Guide to quality in analytical chemistry: An aid accreditation, (2002).
- EUROCHEM/CITAC. Quantifying uncertainty in analytical chemistry. Third Edition, (2012).
- EUROCHEM/CITAC. Terminology in analytical measurement - Introduction to VIM 3. First edition, (2011).
- FERREIRA Lilian, DURÁN Rafael, PALLARES Miguel. El mercurio como contaminante ambiental y agente neurotóxico. Universidad de Vigo (2010); p. 246. ISBN 978-84-8158-500-1.
- FITZGERALD, W.F. & MASON, R.P., Biogeochemical cycling of mercury in the marine environment. *Met Ions Biol Syst.* **34**: 53, 1997.
- FRIBERG, L, NORDBERG, G. Inorganic mercury—a toxicological and epidemiological appraisal. Chapter 1, In: Miller MW, Clarkson TW, eds. *Mercury, Mercurials and Mercaptans*. Springfield, IL, (1973), p 5–23.
- FU, Z.Y.; WU, F.C.; AMARASIRIWARDENA, D.; MO, C.L.; LIU, B.J.; ZHU, J.; DENG, Q.J. & LIAO, H.D., Antimony, arsenic and mercury in the aquatic environment and fish in a large antimony mining area in Hunan, China. *Sci Total Environ.* **408**(16): 3403, 2010.
- HOBMAN, J.L. & BROWN, N.L., Bacterial mercury-resistance genes. *Met Ions Biol Syst.* **34**: 527, 1997.

- HURSH J. CLARKSON, T. MILES, E. GOLDSMITH, L. Percutaneous absorption of mercury vapour by man. *En: Arch Environ Health*. Vol. 44(1989), p. 120–127.
- HSU-KIM, H.; KUCHARZYK, K.H.; ZHANG, T. & DESHUSSES, M.A., Mechanisms Regulating Mercury Bioavailability for Methylating Microorganisms in the Aquatic Environment: A Critical Review. *Environ Sci Technol*. **47**(6): 2441, 2013.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Quality management and quality assurance – Vocabulary, 1994. (ISO 8402).
- JOHS, A.; PARKS, J.M.; HARWOOD, I.; GUO, H.B.; SMITH, J.C.; MILLER, S.M.; SUMMERS, A.O. & LIANG, L.Y., Biomolecular Mechanisms of Microbial Mercury Resistance in the Environment. *Biophys J*. **100**(3): 313, 2011.
- JAIMES, M. Estandarización y validación de algunos parámetros físico-químicos en suelos para uso agrícola. Bucaramanga, 2005, p. 19-32. Trabajo de grado (Químico). Universidad Industrial de Santander. Facultad de ciencias. Escuela de Química.
- KIBUKAMUSIKE, J. DAVIES & D, HUNT, M. Membranous nephropathy due to skin lightening creams. *En: Br Med J*. Vol. 1, (1974); p. 646–647.
- KIYONO, M. & PAN-HOU, H., Genetic engineering of bacteria for environmental remediation of mercury. *J Health Sci*. **52**(3): 199, 2006.
- KRABBENHOFT, D., Mercury cycling in the environment. *Geochim Cosmochim Ac*. **69**(10): A699, 2005.
- LACERDA L, & SALOMONS W. Mercurio na amazonia. Serie Tecnología Ambiental: 3 Río de Janeiro.(1992); 78 pp.
- LATIFI, A.M.; NABAVI, S.M.; MIRZAEI, M.; TAVALAEI, M.; GHAFURIAN, H.; HELLIO, C. & NABAVI, S.F., Bioremediation of toxic metals mercury and cesium using three types of biosorbent: bacterial exopolymer, gall nut, and oak fruit particles. *Toxicol Environ Chem*. **94**(9): 1670, 2012.

- LANGFORD, N. & FERNER, R. Toxicity of mercury. En: *J. Hum. Hypertens.* Vol. 13, (1999); p. 651-656.
- MILLER, S.; LIPTON, M. & SUMMERS, A., Mercury toxicity and mercury resistance in a bacterial model system. *Geochim Cosmochim Ac.* **74**(12): A710, 2010.
- MUÑOS Fabio, DELGADO Jorge. Determinación del mercurio en suelos de Bucaramanga, utilizando un pirolizador acoplado a un detector de mercurio basado en espectroscopia de absorción atómica diferencial de Zeeman. Bucaramanga, 2006. 208 h. Trabajo de grado (Químico). Universidad Industrial de Santander, Facultad de ciencias, Escuela de química.
- MUNTHE, J.; WANGBERG, I.; IVERFELDT, A.; LINDQVIST, O.; STROMBERG, D.; SOMMAR, J.; GARDFELDT, K.; PETERSEN, G.; EBINGHAUS, R.; PRESTBO, E.; LARJAVA, K. & SIEMENS, V., Distribution of atmospheric mercury species in Northern Europe: final results from the MOE project. *Atmos Environ.* **37**: S9, 2003.
- MUNEER, B.; IQBAL, M.J.; SHAKOORI, F.R. & SHAKOORI, A.R., Tolerance and Biosorption of Mercury by Microbial Consortia: Potential Use in Bioremediation of Wastewater. *Pak J Zool.* **45**(1): 247, 2013.
- NAZARENO, P.A.G.; BUOT, I.E. & FLAVIER, M.E., The Plants in a Landfill in the Philippines and their Behavior Towards Lead and Mercury: Their Potential Use For Future Remediation of Metal-Contaminated Soils in The Country. *J Environ Sci Manag.* **14**(1): 60, 2011.
- NEVADO, J.J.B.; BERMEJO, L.F.G. & MARTIN-DOLMEADIOS, R.C.R., Distribution of mercury in the aquatic environment at Almaden, Spain. *Environ Pollut.* **122**(2): 261, 2003.
- NTC-ISO/IEC 17025. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración. Bogotá, (2005). p. 13-23.
- OLIVERO, J. & SOLANO, B. Mercury in environmental samples from a waterbody contaminated by gold mining in Colombia, South America. En: *Sci. Total Environ.* No. 217 (1998); p. 83-89.

- PAN-HOU, H., Application of Mercury-resistant Genes in Bioremediation of Mercurials in Environments. *Yakugaku Zasshi*. **130**(9): 1143, 2010.
- PETERING, H & TIPPER, L. Pharmacology and toxicology of heavy metals: mercury. En: *PharmacolTher.* (1976); p. 131–151.
- REYES, G.N. & DUARTE, M.F., *Evaluación de la capacidad bioacumuladora de mercurio de siete especies vegetales*, in *Química*. 2008, Universidad Industrial de Santander: Bucaramanga.
- REHMAN, A.; ALI, A. & SHAKOORI, A.R., Biosorption of mercury by bacteria, isolated from industrial effluents: Potential use in bioremediation of wastewater. *Pak J Zool.* **40**(2): 115, 2008.
- RIVAS, H. Fernandez. Estimación de incertidumbre para medición de Zn por espectrofotometría de absorción atómica-flama. Simposio de metrología. México. (2006); p. 25-27
- SATOH, H.; HURSH, J.; CLARKSON, T. Selective determination of elemental mercury in blood and urine exposed to mercury vapor in vivo. En: *J. Appl. Toxicol.* Vol. 1 (1981); p. 177-181.
- SILVÉRIO G.; JARDIM, W.; FADINI, P. Elemental gaseous mercury flux at the water/air interface over the Negro River basin, Amazon, Brazil. En: *Science of the Total Environment*. Vol. 368 (2006); p. 189-198.
- Standard methods for the examination of water and wastewater is a joint publication of the american public health association (APHA), the american water works association (AWWA), and the water environment federation (WEF). 1,496 pages. Hardcover. 2012.
- TIMARÁN F. Pantoja, Ph.D. COLOMBIA Tecnologías Apropriadas Para Disminuir La Contaminación Ocasionada Por Mercurio En La Minería Del Oro. 2001.
- VON Berg R. Toxicology update. En: *J Appl/Toxicol.* Vol. 15 (1995); p. 483–493.

- WARKANY, J.; HUBBARD, D. Adverse mercurial reactions in the form of acrodynia and related conditions. En: Am. J. Dis. Child. Vol. 81.(1951); p. 335-373.
- WASSERMAN, J.C.; HACON, S. & WASSERMAN, M.A., Biogeochemistry of mercury in the Amazonian environment. *Ambio*. **32**(5): 336, 2003.
- WAGNER-DOBLER, I., Pilot plant for bioremediation of mercury-containing industrial wastewater. *Appl Microbiol Biot*. **62**(2-3): 124, 2003.
- WINSHIP, K. Organic mercury compounds and their toxicity. En: Adverse drug react. Acute poisoning rev. 5. (1986); p. 141-180.
- WOLFF, Erwin. Proyecto río Suratá: líneas de acción para reducir contaminación proveniente de la pequeña minería aurífera en Vetás y California (departamento de Santander, Colombia). Jornada internacional sobre el impacto ambiental del mercurio utilizado por la minería aurífera artesanal en Iberoamérica, Lima, 2001.

7. ANEXO

ANEXO A

Valores de la distribución t de student para un 95% de confianza

gl	95%	gl	95%	gl	95%	gl	95%
1	12,71	11	2,20	21	2,08	50	2,01
2	4,30	12	2,18	22	2,07	∞	1,96
3	3,18	13	2,16	23	2,07		
4	2,78	14	2,14	24	2,06		
5	2,57	15	2,13	25	2,06		
6	2,45	16	2,12	26	2,06		
7	2,36	17	2,11	27	2,05		
8	2,31	18	2,10	28	2,05		
9	2,26	19	2,09	29	2,05		
10	2,23	20	2,09	30	2,04		

gl: Grados de libertad