



Diseño y optimización de una celda para generar vapor frío de mercurio y su determinación por Espectroscopia de Absorción Atómica

Liliana C Murillo*, José R Dominguez, Lenys Fernández, José Alvarado

Departamento de Biología y Química. Universidad Pedagógica Experimental Libertador. Instituto Pedagógico de Caracas. (UPEL – IPC). Departamento de Química. Universidad Simón Bolívar. (USB)

(*) lilianac28@gmail.com

Recibido: 26/09/2013

Revisado: 26/12/2013

Aceptado: 28/12/2013

Resumen

Este trabajo muestra el diseño y elaboración de una celda donde se logró fundamentalmente el uso de pequeños volúmenes de muestra y reactivos y bajos límites de detección, en la determinación de mercurio en muestras de orina. Se reporta la optimización de variables como el volumen de reactivos y muestra. El límite de detección calculado ($S_{bl} + 3\sigma$) fue de 4 ng/mL. Se analizó un estándar certificado de orina y no se encontraron diferencias significativas ($P = 0,05$) entre los valores de concentración

Palabras clave: Espectroscopia de Absorción Atómica; CV AAS, celdas de vidrio, mercurio y orina

Abstract

This work shows the design and development of a reaction cell in which, using small volumes of sample and reagents, low detection limits in the determination of mercury in urine samples, were achieved. Significant parameters such as volume of reagents and sample were optimized. A detection limit (S_{bl}) obtained. Analysis of a urine standard reference material showed no significant differences ($P 0.05$) between the experimental and certified concentration values.

Keywords: Atomic Absorption Spectroscopy, CV AAS, glass cells, and urine mercury.

Introducción

La elevada producción, dispersión y acumulación de compuestos tóxicos en el medio ambiente propicia el deterioro y la contaminación del mismo, lo cual representa un peligro potencial para la supervivencia de los seres vivos. Esta situación ha generado la aparición en el ser humano de ciertos desórdenes clínicos ocasionados por la toxicidad de algunos metales pesados¹⁻³.

Entre los metales pesados, el mercurio (Hg) es el contaminante ambiental y ocupacional más peligroso, no sólo por la gravedad de las enfermedades que causa sino por los efectos irreversibles que provoca en los seres vivos. El Hg se encuentra en estado elemental y formando parte de una gran variedad de compuestos, todos ellos con propiedades fisicoquímicas intrínsecas y efectos toxicológicos diferenciados. La mayoría de las aplicaciones industriales están relacionadas con el propio metal y con sus compuestos inorgánicos y, en ambos casos, la eliminación urinaria del mercurio absorbido es un indicador aceptable de exposición⁴⁻⁶.

Por lo tanto, es importante monitorear clínica y toxicológicamente a los individuos que habitan en zonas aledañas a las industrias emisoras de Hg; así como también, a las personas que laboralmente se encuentran expuestas a este metal^{4,7}.

Para realizar dicho monitoreo existen diversas técnicas analíticas que permiten determinar la concentración de este metal en el organismo, a través de muestras de orina, sangre y/o cabello. Entre los métodos más utilizados se encuentra la generación de vapor frío y detección por espectroscopia de absorción atómica, ya que, permite la determinación de mercurio sin necesidad de emplear la llama u otro sistema de atomización, con una sensibilidad superior a la obtenida por el método convencional en solución acuosa sin separación del vapor. El sistema para la generación de vapor frío puede ser por dos vías; carga o batch y en flujo continuo. El primero se realiza en reactores comerciales conformados por grandes reservorios donde se colocan los reactivos. Esta metodología es poco usada por la necesidad de volúmenes grandes de reactivos, lo que hace costosa la determinación. En el segundo, la

reacción ocurre al transportar los reactivos por tuberías y espirales de reacción. Esta metodología es la más utilizada hoy en día por el requerimiento de poca cantidad de reactivos⁸⁻¹².

Con el fin de pretender solventar las limitaciones anteriormente señaladas en el sistema batch, en el presente trabajo se presenta el diseño y optimización de una celda donde se genera vapor frío utilizando pequeños volúmenes de muestras y reactivos, y una corriente de argón como medio de transporte del Hg⁰ formado; de modo que no sea necesario el empleo de bombas peristálticas o de cualquier otro tipo en la determinación de mercurio por espectroscopia de absorción atómica⁵.

Parte experimental

Materiales

- Ácido Nítrico Riedel – de Haën 65%
- Estándar de mercurio 100 mg/L
- Borohidruro de sodio Aldrich 99%
- Hidróxido de sodio EKA PELLETS 98%
- Estándar certificado de mercurio en orina marca National Institute of Standards and Technology (NIST) SRM 2672a.
- Agua destilada y desionizada 18 MΩ resistivityt

Equipos

Espectrofotómetro de absorción atómica con atomización a la llama marca Perkin Elmer, modelo 460 equipado con una lámpara de cátodo hueco de mercurio marca PHOTROM LAMPS.

Procedimiento

Tratamiento de Muestras

Las muestras de orina utilizadas para la optimización de la metodología propuesta fueron obtenidas del grupo de investigadores del laboratorio de espectroscopia atómica del Departamento de Química de la Universidad Simón Bolívar. Las muestras fueron analizadas inmediatamente después de la micción.

Las mismas fueron previamente acidificadas con 1 % de ácido nítrico.

Curva de calibración y determinación del rango lineal:

Se prepararon cinco patrones de mercurio (10, 20, 40, 60, y 80 ng/mL), a partir de una solución estándar de 100 ng/mL y acidificando de modo que la solución resulte 1% en ácido nítrico. Se midió la absorbancia de la serie de patrones utilizando borohidruro de sodio como agente reductor. Los resultados fueron obtenidos por triplicado.

Condiciones para las Mediciones

Las medidas de absorbancia del Hg en los patrones y en las muestras se hicieron a una longitud de onda de 253nm, con la cual se obtuvo mayor absorbancia con el patrón de menor concentración; una rendija de 0,7nm, con corriente en la lámpara de 8 mA, y un flujo de argón de 30 mL/min que arrastra el vapor formado hacia la zona de medición. Para esto se conectó un regulador de argón (Ar), aspecto muy importante ya que, dependiendo de la rapidez con que se insuffle el gas de arrastre, las burbujas producidas tienden a dirigirse hacia el camino óptico.

Tabla 1. Condiciones para las mediciones

Parámetro	Valor
Longitud de onda (nm)	253
Corriente de la lámpara (mA)	8
Flujo de argón (mL/min)	30
Slit (nm)	0,7

Resultados y discusión

En el diseño se hizo el mayor énfasis en la minimización de los volúmenes muertos de modo que pudiesen operar con pequeños volúmenes de patrón/muestra y agente reductor. También se minimizan las distancias entre el reservorio de reacción y la parte superior de la “T” para lograr así una mayor transferencia del vapor desde donde ocurre su formación hasta la zona de medición de la especie absorbente (Fig. 1).

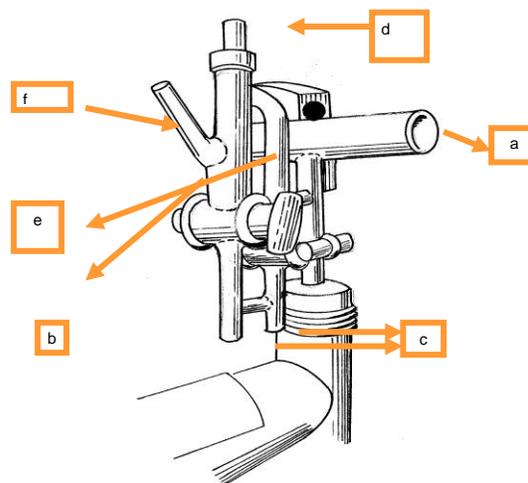


Fig. 1. Celda diseñada con separador gas/líquido

Optimización del volumen de patrón y/o muestra a utilizar en las mediciones

Se utilizó un patrón acuoso de 50 ng/mL de mercurio y se varió su volumen de 50 μ L a 350 μ L, realizando las mediciones de absorbancia, bajo las condiciones que se especifican anteriormente. Se observó un aumento de absorbancia a medida que se aumenta el volumen hasta llegar a 250 μ L del patrón, luego se observa una lectura constante debido a la saturación del detector (Fig. 2). Se obtuvo que el volumen óptimo con el que se logra la mayor absorbancia es 250 μ L.

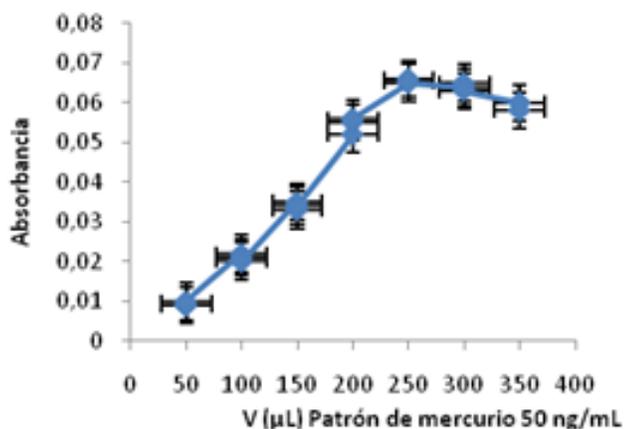


Fig. 2. Variación de absorbancia en función de volumen agregado de solución de patrón de mercurio 50 ng/mL.

Optimización del volumen de Borohidruro de sodio

Se procedió a optimizar el volumen a utilizar borohidruro de sodio, para 250 μ L de patrón de mercurio de 50 ng/mL variando el volumen de una solución de borohidruro de sodio al 3% desde 50 μ L hasta 500 μ L. Se obtuvo que el volumen que proporciona mayor absorbancia es 250 μ L, luego de este volumen el valor de absorbancia presenta poca variación (Fig.3).

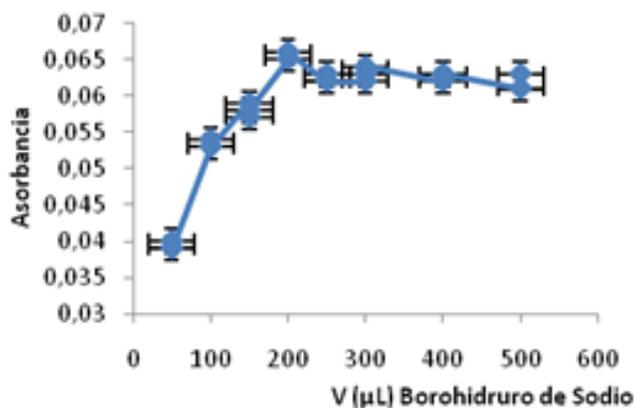


Fig.3. Variación de absorbancia en función de volumen de borohidruro de sodio agregado.

Elaboración de curvas de calibración

Utilizando 250 μ L de patrón y 250 μ L de borohidruro de sodio, se realizaron mediciones de absorbancia de los patrones de mercurio con concentraciones entre 10 y 100 ng/mL, las curvas han sido reproducibles, tanto en el mismo día como en semanas y meses diferentes, ello evidencia que es factible la generación de vapor frío, en forma reproducible a corto y mediano plazo usando la celda descrita en este trabajo. Los resultados obtenidos revelan que el rango de concentraciones lineal es de 10 a 80 ng/mL de mercurio (Fig. 4).

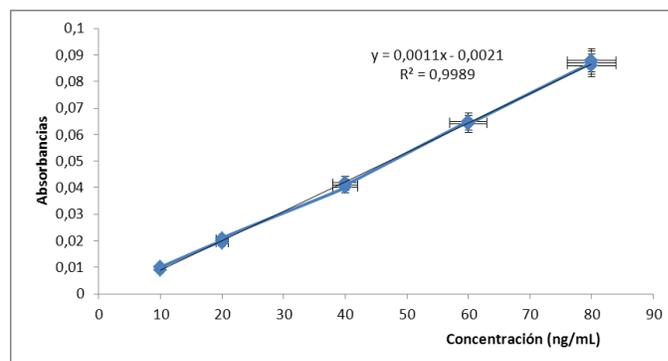


Fig. 4. Curva de calibración, para la determinación de Hg mediante el uso de la celda de generación de vapor frío.

Figuras de Mérito

El límite de detección fue calculado como $LOD = S_{bl} + 3\sigma$, donde S_{bl} es la señal del blanco y σ es la desviación estándar de diez repeticiones. Empleando la ecuación anterior y los datos obtenidos el límite de detección es de 4 ng/mL. Si se compara este límite de detección con el que se obtiene por el método convencional¹³ es mil veces menor y si se compara con el límite de detección del equipo MHS 10¹⁴, está por encima de este valor, sin embargo al calcular la masa de mercurio detectada utilizando la celda, se obtiene que es 1 ng y con el MHS 10 es 2 ng, lo que nos indica que podemos detectar masas menores con la celda propuesta. Por otra parte cabe destacar que según las referencias consultadas no existe en la actualidad celdas similares a las diseñadas por nuestro grupo de investigación, por lo que sólo podemos realizar una comparación directa con celdas tipo batch (Tabla 2).

Validación del Método

Se analizó un estándar certificado (NIST, SRM 2672a) de orina cuyo contenido certificado en mercurio es 600 ng/mL, el cual fue diluido a 60 ng/mL y se midió la absorbancia con el mismo procedimiento de las muestras y patrones obteniéndose un valor experimental de $62,58 \pm 1,53$ ng/mL. Se realizó una prueba t al 95 % de confianza para determinar si había diferencias significativas entre el valor obtenido y el reportado por el material certificado y

se obtuvo una t igual a 2,92 el cual es menor que el t teórico ($P = 0,05$), por lo que se concluye que no existe diferencias significativas entre el resultado obtenido y el que indica el material certificado. Esto representa un porcentaje de recuperación de $104,30 \pm 2,39$. El porcentaje de error asociado a esta medida es de 4,30%, lo que indica que el procedimiento realizado es suficientemente exacto para la determinación de mercurio mediante la generación de vapor frío utilizando la celda con separador gas líquido.

Tabla 2. Límites de detección obtenidos y volúmenes empleados para la determinación de mercurio en muestras biológicas. Utilizando celdas in batch

Autor/ Año	LOD/ V_{AR} / $V_{p/m}$ *
Hatch, R; y col. / 1968 ¹⁵	1 ng/mL / 100 mL / 25 mL
Morales, I.; y col. /2007 ¹⁶	0,4 µg/L /250 mL/ 25 mL
Murillo, L.; y col. /2012	4 ng/mL / 250 µL / 250 µL

* LOD = Límite de detección

V_{AR} = Volumen de reactivos

$V_{p/m}$ = Volumen de patrón o muestra

Conclusiones

La celda de reacción diseñada para la generación de vapor frío con un separador gas líquido como medio de introducción de muestra en el espectrofotómetro de absorción atómica y la metodología de análisis optimizada permitió la determinación cuantitativa y reproducible de mercurio en muestras de orina. El rango lineal fue de 10 ng/mL a 80 ng/mL, empleando borohidruro de sodio como agente reductor. El límite de detección calculado fue de 4 ng/mL. Los resultados de concentración de mercurio no presentaron diferencias significativas ($P = 0,005$).

Referencias

1. F Monteagudo. Evaluación de la contaminación por mercurio en la población de mineros artesanales de oro de la comunidad de Santa Filomena - Ayacucho - Perú durante el periodo agosto - septiembre 2001.
2. Organización Mundial de la Salud. El Mercurio en el sector de la salud. (2005)
3. J Valderas, ME Mejias, J Riquelmer, K Aedo, S Aros, F Barrera. Intoxicación familiar por mercurio elemental. **Rev. Chil. Pediatr.**, **84** (1), 72-79 (2013).
4. A Doadrio, A. Ecotoxicología y acción toxicologica del mercurio. **Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia**, **70**(4), 933-959 (2004)
5. A Ramírez. Intoxicación Ocupacional por mercurio. **An. Fac. med.**, **69**(1), 46-51 (2008)

6. DL Tsalev. Atomic Absorption Spectrometry in Occupational and Environmental Health Practice, Vol III, CRC Press, EEUU (1995).
7. S Bello, M Rodríguez, D Fernández, A del C Vásquez, A Ocando, J Contreras, V Granadillo. Niveles de mercurio en cabello de individuos expuestos ocupacionalmente en el area odontológica. **Acta Odontol. Venez.**, **40**(2), 123-128(2002)
8. T Frentiua, A Mihaltanb, M Senila, E Darvasi, M Ponta, M Frentiu, B Petru. New method for mercury determination in microwave digested soil samples based on cold vapor capacitively coupled plasma microtorch optical emission spectrometry: Comparison with atomic fluorescence spectrometry. **Microchemical Journal**. **110**, 545-552 (2013)
9. V Azevedo, L Oliveira dos Santos. A new method for preconcentration and determination of mercury in fish, shellfish and saliva by cold vapour atomic absorption spectrometry. **Food Chemistry**, **149**, 203-207 (2014).
10. V Červený, M Horváth, J Broekaert. Determination of mercury in water samples by electrochemical cold vapor generation coupled to microstrip microwave induced helium plasma optical emission spectrometry. **Microchemical Journal**, **107**, 10-16 (2013)
11. L Adlnasab, H Ebrahimzadeh, A Asgharinezhad, M Nasiri, A Deghani, S Esmailpour. A Preconcentration Procedure for Determination of Ultra-Trace Mercury (II) in Environmental Samples Employ ing Continuous-Flow Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry. **Food Analytical Methods**. DOI 10.1007/s12161-013-9664-y (2013).
12. K Byoung-Gwon, G Eun-Mi, K Gyeong-Yeon, Y Dae-Seon Kim, K Rock-Bum, S Byung-Seong, H Young-Seoub.. Analysis of Methylmercury Concentration in the Blood of Koreans by Using Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrophotometry **Ann. Lab. Med.**, **32**, 31-37 (2012)
13. D Beaty Conceptos, Instrumentación y Técnicas de Espectrofotometría por absorción atómica. The Perkin-Elmer Corporation EEUU (1979).
14. PERKIN ELMER INC. (s.f.). "Manual de Técnicas Analíticas" del Espectrofotómetro de Absorción Atómica Perkin Elmer 3300 con Sistema de Generación de Vapor Frío MHS - 10.
15. W Ronald Hatch, W Ott. Determination of submicrogram quantities of mercury by Atomic Absorption Spectrophotometry- **Anal. Chem.**, **40**(14),2085-2087 (1968).
16. I Morales, R Reyes, J Alvarado, R Mijares. Diagnóstico de la Contaminación por Mercurio en el Personal de una Unidad Odontológica de Caracas. **Acta Odontol. Venez.**, **45**(3),127-131 (2007)