

Validación del Método de Medición de Hg en Agua por Espectrometría de Absorción Atómica con Sistema de Generación de Vapor Frío Utilizando Amalgamación en Trampa de Oro como Medio de Preconcentración

Flora Mercader T.,^a Raúl Herrera B.,^a Juanito Carrasco B.^b

^a Centro Nacional de Metrología
km 4,5 Carretera a Los Cués, 76246, Querétaro, México.
fmercader@cenam.mx

^b Instituto Tecnológico de Oaxaca
Av. Ing. Víctor Bravo Ahuja 125 Esq. Calz. Tecnológico, 68030, Oaxaca de Juárez, México.

RESUMEN

Se presenta la validación de un método de medición de Hg en agua pura y superficial con niveles de concentración de masa entre (0,020-1,0) µg/L de Hg, mediante espectrometría de absorción atómica con generación de vapor frío acoplada con un sistema de amalgamación a través de una trampa de oro-platino. Los parámetros de validación determinados fueron: límite de detección y de cuantificación de 0,029 y 0,044 µg/kg de Hg respectivamente, intervalo lineal de (0,025-0,300) µg/kg, repetibilidad de %CVR= 1,19 %, precisión intermedia, %CVi=3,18 %, veracidad evaluada a partir del SRM 1641d y expresada como sesgo relativo de -0,17 %, incertidumbre del 10 % y robustez estudiando el efecto del tiempo de reacción y del número de ciclos de preconcentración sobre la sensibilidad de la señal de Hg. Mediante los resultados obtenidos, se concluyó que el método es adecuado para el propósito establecido, permitiendo conocer sus ventajas y limitaciones.

1. INTRODUCCIÓN

Del agua que cubre a nuestro planeta, el 97 % se encuentra en los océanos, del porcentaje restante menos del 1 % es agua dulce y entre el 2 % y el 3 % está retenida en los glaciares y capas de hielo [1]. La predicción de los expertos internacionales, plasmada en el informe final de la Evaluación Mundial de Aguas Internacionales (EMAI) realizada en el 2006, es que los impactos ambientales de la escasez de agua dulce aumentarán en su mayoría o permanecerán en el mismo estado en los próximos 15 años [2]. Considerando esta problemática, a nivel internacional han surgido iniciativas de las autoridades ambientales para proteger la calidad de este líquido vital para los humanos. Tal es el caso de las acciones tomadas por la Unión Europea (UE) para prevenir la contaminación de aguas superficiales, presentando, en el 2006, las normas de calidad ambiental para sustancias prioritarias.

Por sus características ecotoxicológicas, el mercurio (Hg) y sus compuestos están incluidos dentro de la lista de sustancias tóxicas prioritarias, estableciendo una concentración máxima permisible (CMP) de 0,05 µg/L de Hg total en aguas superficiales [3]. El contenido de mercurio establecido como CMP por la UE es extremadamente pequeño, por consiguiente, surge la necesidad de que existan métodos

analíticos con características que permitan cumplir con estos requisitos.

Como apoyo a la iniciativa de la UE, el PTB organizó ejercicios de comparación, en el marco de CCQM, con la finalidad de que los INM's y laboratorios de ensayos de la UE desarrollaran métodos validados para la determinación de mercurio en agua pura y superficial.

Actualmente en México, no se tienen requisitos tan estrictos dentro de la normatividad vigente, sin embargo, se espera que en poco tiempo sean adoptados criterios similares a los establecidos en la UE para protección del medio ambiente.

Este trabajo se diseñó con el objetivo de tener un método validado que permitiera participar en las comparaciones piloto identificadas como: CCQM-P100.1 y 100.2. Para la comparación CCQM-P100.1 cada laboratorio participante recibió una muestra de 500 mL de agua pura adicionada con Hg en el intervalo de 0.020 µg/L a 0.1 µg/L, mientras que para la comparación CCQM-P100.2 se recibieron 100 mL de una muestra de agua superficial natural adicionada con Hg en el intervalo de 0.1 µg/L a 1 µg/L. Ambas muestras fueron estabilizadas con BrCl 0.5 %, de acuerdo a lo especificado en el método EPA 1631 [4].

La medición de mercurio en las muestras de ambas comparaciones se realizó utilizando espectrometría de absorción atómica con sistema de generación de vapor frío utilizando amalgamación en trampa de oro como medio de preconcentración (EAA-VF-Amalgamación). Como parte de este trabajo, se incluye una descripción de la forma como fueron evaluados los parámetros de validación así como una discusión de los resultados obtenidos. Los parámetros de interés fueron: intervalo lineal y de trabajo, límite de detección y de cuantificación, exactitud (precisión bajo condiciones de repetibilidad, precisión intermedia considerando el factor tiempo y veracidad), robustez e incertidumbre.

2. DESARROLLO EXPERIMENTAL

2.1. Reactivos

HCl 37 % (J.T. Baker), HCl 37 % (J.T. Baker) de alta pureza, KBr 99,9 % (Fermont) g.r., KBrO₄ 99,8 % (Sigma/Aldrich) g.r., NH₂OH-HCl 98,5 % (J.T. Baker), SnCl₂ 98 % (Sigma/Aldrich).

2.2. Lavado del Material

El lavado del material se realizó siguiendo una modificación del procedimiento marcado en el método EPA 1631, el cual se describe de la siguiente manera:

1. Enjuagar 5 veces las botellas con agua de medición (conductividad nominal de 2 µS/cm).
2. Llenar las botellas con HCl al 2 % y calentarlas a una temperatura entre (60-70) °C en un baño María, durante 5 h aproximadamente. Mantener las tapas sobre la boca de la botella sin ajustarlas.
3. Enjuagar las botellas 5 veces con agua y dejarlas tapadas llenas con agua, reposando durante toda la noche.
4. Al día siguiente, enjuagar las botellas 3 veces con agua.
5. Secar las botellas en la estufa a una temperatura entre 80 °C y 90 °C durante 5 hs. Mantener las tapas sobre la boca de la botella sin ajustarlas.
6. Dejarlas enfriar en una campana de flujo laminar y guardarlas en bolsas de polietileno hasta su uso.

2.3. Materiales de Referencia

DMR-110c, Disolución espectrométrica de mercurio, (995,1 ± 5,2) mg L⁻¹ de Hg en HNO₃ 2%, certificado por el CENAM, México. Este MRC fue utilizado como calibrante.

SRM 1641d, *Mercury in water*, (1,590 ± 0,018) mg kg⁻¹ de Hg, certificado por el *National Institute of Standards and Technology* (NIST), EUA. Este MRC fue utilizado como control para evaluar el proceso de medición.

2.4. Equipo

Espectrofotómetro de absorción atómica, marca Perkin Elmer, modelo AAnalyst 200, equipado con: un automuestreador AS91, un sistema de análisis por inyección de flujo FIAS 400 y un sistema de amalgamación con trampa de oro, todos de la misma marca.

Balanzas analíticas: modelos AX 205 y PM1200 de la marca Mettler Toledo. Densímetro DMA5000 marca Anton Paar.

2.5. Preparación de Disoluciones

El proceso de lavado de material, así como la preparación de todas las disoluciones de mercurio necesarias para realizar la evaluación del método, fue realizado en un cuarto limpio clase 100/10000. Todas las disoluciones de Hg utilizadas fueron preparadas con BrCl 0.5 % para fines de estabilización del Hg y para igualar la matriz a la de las muestras. Con la finalidad de evitar que los halógenos presentes en la muestra pudieran dañar el tubo de oro, se adicionaron 0,1 mL de una disolución de 0.3 g/mL de NH₂OH-HCl, por cada 100 mL de disolución de Hg.

2.6. Descripción del Sistema de Medición

La configuración del FIAS en combinación con el sistema de amalgamación, así como el programa de partida, se basó en el trabajo publicado por Perkin Elmer [5] realizando las modificaciones necesarias para obtener una señal con suficiente sensibilidad.

Las condiciones instrumentales aplicadas se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Condiciones instrumentales utilizadas.

Parámetro	Descripción
Longitud de onda	253.65 nm
Slit	2.7 / 1.05 mm
Lámpara	De Hg de descarga sin electrodos (EDL)
Temperatura de la celda	100 °C
Flujo de muestra	7-8 mL/min
Flujo de reductor (SnCl ₂)	5 mL/min

Tabla 2. Programa utilizado para el manejo del FIAS-Amalgamación.

Pasos	Tiempo (s)	Vel. bomba 1 (rpm)	Vel. bomba 2 (rpm)	Posición de la válvula	Calentamiento	Enfriamiento
Prellenado	15	0	100	Inyección		X
T1	15	0	100	Inyección		X
T2	60	0	100	Llenado		X
T3	20	0	0	Llenado		X
T4	20	0	0	Inyección	X	
T5	1	0	0	Inyección		X

El programa optimizado para el manejo del FIAS-Amalgamación, se encuentra descrito en la tabla 2, el cual consiste de 6 pasos utilizando solamente una de las dos bombas peristálticas del sistema.

El paso T2 del programa determina el tiempo de reacción entre el Hg(II) presente en la muestra y el reductor (SnCl_2), este paso es el que determina la cantidad de Hg elemental que se va producir para su posterior amalgamación en la trampa de oro. Un ciclo de preconcentración comprende a los pasos T1, T2, y T3, los mismos que deben repetirse al aplicar múltiples ciclos.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los parámetros evaluados durante el proceso de validación fueron: robustez, límite de detección y de cuantificación, intervalo lineal y de trabajo, selectividad, exactitud (precisión bajo condiciones de repetibilidad, precisión intermedia y veracidad) e incertidumbre.

3.1. Robustez

Las pruebas de robustez del método se realizaron durante la etapa de optimización, buscando tener las condiciones de medición adecuadas para obtener la señal más intensa (mayor absorbancia). Adicionalmente, considerando que el método que se evaluó se basa en la preconcentración del mercurio contenido en un volumen de muestra, se tenía la exigencia de minimizar el consumo de muestra, pues como se describe en la introducción, ya estaba determinado el volumen de muestra que sería enviado a cada laboratorio participante en cada una de las comparaciones.

Bajo estas condiciones, con una disolución de 0,05 $\mu\text{g/L}$ de Hg, se evaluó la influencia del tiempo de reacción $T_2 = (10, 20, 30, 40, 50, 60 \text{ y } 70) \text{ s}$ y del número de ciclos de preconcentración (1-4) ciclos sobre la señal de absorbancia de Hg. Los resultados obtenidos se encuentran graficados en la Fig. 1,

observando que para todos los tiempos T_2 evaluados, a medida que se aumentan los ciclos de preconcentración, se incrementa la señal de absorbancia.

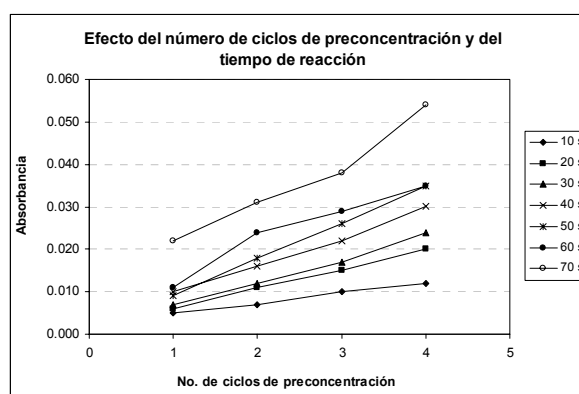


Fig. 1. Efecto del número de ciclos de preconcentración y del tiempo de reacción sobre la señal de absorbancia de una disolución de 0,050 $\mu\text{g/L}$ de Hg.

Se realizó un análisis de la cantidad de muestra consumida (mL) con respecto a los tiempos de reacción y ciclos de preconcentración estudiados. Para el cálculo del consumo de muestra se consideró la obtención de dos lecturas de absorbancia para cada condición aplicada. Se decidió utilizar un tiempo de reacción de 60 s aplicando dos ciclos de preconcentración, ya que bajo estas condiciones se tiene un consumo de muestra de aproximadamente 40 mL obteniendo una señal de absorbancia de 0,024 para la disolución de 0,050 $\mu\text{g/L}$ de Hg. Es importante resaltar, que de acuerdo con los datos de la Fig. 1, es posible obtener señales más intensas, y por lo tanto mayor sensibilidad, al incrementar los ciclos de preconcentración y el tiempo de reacción. Lo anterior es posible siempre y cuando se tenga suficiente cantidad de muestra disponible.

3.2. Límite de Detección (L. D.) y de Cuantificación (L. C.)

Puesto que el principal objetivo del desarrollo de este método, es poder medir concentraciones de mercurio al nivel de ultra trazas, es de primordial importancia conocer el límite de detección y de cuantificación. Para evaluar estos parámetros se consideraron las siguientes expresiones:

$$L.D. = \bar{y}_b + 3s_b, \quad (1)$$

$$L.C. = \bar{y}_b + 10s_b, \quad (2)$$

donde \bar{y}_b representa el promedio de las mediciones del blanco (absorbancia) y s_b es la desviación estándar de las mediciones del blanco (absorbancia).

Se prepararon 6 blancos reactivo independientes conteniendo BrCl 0.5 % y 0.1 mL de NH₂OH-HCl 0.3 g/mL, en 100 g de disolución. Se midió la señal de absorbancia en cada uno de ellos, se aplicaron las Ecs. (1) y (2) y mediante el uso de la función de calibración, se transformaron los valores de absorbancia en unidades de fracción de masa. Los parámetros de la función de calibración ajustada a un modelo lineal son:

- Pendiente: 0,39951 Absorbancia kg μg^{-1}
- Intercepto: -0,00202 Absorbancia

Los valores obtenidos para el límite de detección y de cuantificación fueron de 0,029 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de Hg y 0,044 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de Hg, respectivamente. Es importante señalar que para lograr obtener estos resultados, fue necesario purificar las sales de bromo utilizadas en la preparación del BrCl. Este proceso se realizó mediante el calentamiento de las sales a 80 °C durante 3 h.

3.3. Intervalo Lineal

Estos parámetros se estudiaron utilizando blancos reactivo y disoluciones de mercurio en el intervalo de (10-300) $\mu\text{g}/\text{kg}$, preparadas a partir de diluciones del material de referencia DMR 110c. Se obtuvo la señal de absorbancia de cada una de las disoluciones y se graficó la señal corregida por el efecto del blanco vs. la fracción de masa de mercurio. A los datos colectados se les aplicó un análisis de varianza (ANOVA) y de residuales para definir el intervalo donde los datos se ajustan mejor a una función de calibración lineal. Se definió un intervalo lineal comprendido de (0,025 a 0,300)

$\mu\text{g}/\text{kg}$, definido por la ecuación $y=0.3431x-0.0021$, con un coeficiente de determinación $R^2 = 0,9990$.

3.4. Selectividad

Uno de los propósitos de uso del método bajo estudio, es para la medición de Hg tanto en agua pura como en agua superficial. En este último tipo de agua, por ser una muestra natural, además del mercurio, estarán presentes otros componentes propios de la matriz, tales como Ca, Mg, Na, K, Fe, Mn, como constituyentes mayoritarios. Por tal razón, es importante conocer la influencia que pueden tener el resto de los componentes de la matriz sobre la medición de Hg.

Se diseñó un experimento para conocer la presencia de posibles efectos de matriz mediante la adición de una cantidad conocida de mercurio (aproximadamente 0,250 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de Hg) a diferentes porciones de la muestra con matriz, para cuantificar el factor de recuperación (f_r). Por limitaciones del volumen disponible de muestra, la evaluación se hizo en tres muestras independientes. El f_r fue obtenido aplicando la Ec. 3, obteniendo un valor de 1,106 con una incertidumbre estándar de 0,027:

$$f_r = \frac{w_{M+A} - w_M}{w_A}, \quad (3)$$

donde w_{M+A} es la fracción de masa de Hg en la muestra adicionada, $\mu\text{g}/\text{kg}$, w_M es la fracción de masa de Hg medida en la muestra sin adicionar, $\mu\text{g}/\text{kg}$, w_A es la fracción de masa de Hg adicionada, $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Mediante los resultados obtenidos fue posible detectar la presencia de efectos de matriz, lo cual debe ser considerado en la aplicación de este método a muestras naturales, para corregir efectos sistemáticos inherentes a este factor.

3.5. Exactitud

En esta sección se presenta la evaluación de la precisión (repetibilidad y precisión intermedia) y la veracidad como parámetros de validación.

3.5.1. Repetibilidad

La precisión bajo condiciones de repetibilidad del método se evaluó midiendo el material de referencia certificado SRM 1641d. Se prepararon, por dilución con BrCl al 5 %, 6 sub-muestras de manera independiente conteniendo 0,050 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de Hg. Las disoluciones se midieron en una sola corrida, en un

mismo día. La precisión bajo condiciones de repetibilidad, expresada como % CVr es de 1.19 %.

3.5.2. Precisión Intermedia

La precisión intermedia se evaluó midiendo el SRM 1641d. Se hicieron mediciones en dos días diferentes (variación del factor tiempo). En cada día, se prepararon 6 sub-muestras de manera independiente conteniendo 0,050 µg/kg de Hg. Con los datos obtenidos, se hizo un análisis de varianza (ANOVA) de un factor para evaluar si hay diferencia significativa entre los días de medición. El resultado indicó que F calculada (0,042) es menor que la F crítica (4,964), por lo tanto se puede concluir que no hay diferencia significativa, entre los días de medición, a un nivel de confianza del 95 %. La precisión intermedia del método expresada como % CVi es de 3,18 %.

Tabla 3. Resultados obtenidos para la evaluación de la veracidad (sesgo) del método de medición.

Descripción	w _{Hg} , µg/kg	U(k=2)
Valor certificado	1,5900	0,0180
Valor medido	1,5872	
Sesgo	-0,0028	
Sesgo relativo (%)	-0,17%	

3.5.3. Veracidad

La veracidad del método se evaluó utilizando el SRM 1641d, se consideraron los resultados obtenidos para evaluar la precisión intermedia. Se calculó el sesgo relativo (%) de la medición (Ec. 4),

comparando el valor obtenido experimentalmente (\bar{x}) contra el valor certificado (x_0):

$$\% \text{ Sesgo Relativo} = \frac{\bar{x} - x_0}{x_0} \times 100. \quad (4)$$

En la Tabla 3 se incluyen los datos obtenidos para la evaluación del sesgo del método.

3.6. Incertidumbre

La evaluación de la incertidumbre se realizó de acuerdo a lo recomendado en la Guía EURACHEM *Quantifying uncertainty in analytical measurement* [6]. Se consideró el siguiente modelo matemático midiendo muestras de agua superficial natural:

$$\gamma_{Hg} = \frac{w_{(Hg-B)} f_d \rho}{f_r}, \quad (5)$$

donde γ_{Hg} es la concentración de masa de mercurio medida en la muestra, µg/L, $w_{(Hg-B)}$ fracción de masa de mercurio en la muestra cuantificada mediante la función de calibración restando la señal del blanco, µg/kg, f_d es el actor de dilución, f_r es el factor de recuperación ρ es la densidad de la muestra, kg/L

En la Tabla 4, se presenta un resumen de los valores y la contribución de cada una de las fuentes de incertidumbre consideradas para la cuantificación de la concentración de masa de Hg (γ_{Hg}) en una muestra de agua superficial. Esta información se representa gráficamente en la Fig. 1.

Tabla 4. Resumen de valores para la estimación de incertidumbre.

Fuente de incertidumbre	Valor	u(xi)	Unidades	Coefficiente de sensibilidad, Ci	Contribución a la incertidumbre
Fracción de masa, w _{Hg}	0,096	0,00360	µg/kg	6,551	0,023583
Factor de recuperación, fr	1,108	0,02463	-	-0,568	0,013985
Factor de dilución, fd	7,179	0,00004	-	0,088	0,000003
Densidad de la muestra, ρ	1,011	0,00001	kg/L	0,622	0,000006
Método, fmet	1	0,05079	-	0,629	0,031945

γ_{Hg}	0,630	µg/L	Concentración de masa de Hg en el material de ensayo
U _c	0,042	µg/L	Incertidumbre combinada
U (γ_{Hg})	0,084	mg/L	Incertidumbre expandida (k = 2, nivel de confianza ≈ 95 %)

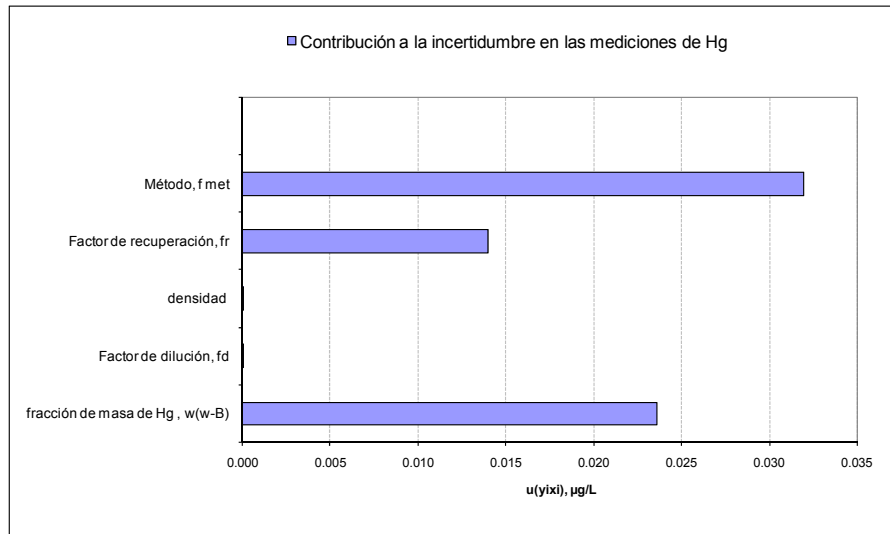


Fig. 2. Contribución a la incertidumbre en la medición de Hg en agua superficial natural. $u(y, x_i) = C_i \cdot u(x_i)$.

4. CONCLUSIONES

Se desarrolló y optimizó un método para la medición del contenido de mercurio en el intervalo de (0,020-1,0) µg/L en agua pura y superficial natural utilizando EAA-VF-Amalgamación.

A partir de los parámetros de validación evaluados se determinó que el método de medición es adecuado para el propósito establecido. Sin embargo, se observó que presenta baja sensibilidad, misma que puede ser mejorada cambiando el tiempo de reacción y el número de ciclos de preconcentración. Esta acción repercute directamente sobre la cantidad de muestra consumida, lo cual representa una limitante cuando se tiene un volumen de muestra reducido. Es importante señalar que se detectó la presencia de efectos de matriz, mismos que pueden corregirse aplicando el factor de recuperación calculado durante la validación del método. Otra alternativa para corregir el efecto de matriz es utilizar calibración mediante adición de patrón, sin embargo, para este trabajo no se contaba con muestra suficiente para realizar este procedimiento. Para evitar la contaminación de las muestras y poder alcanzar los límites de detección obtenidos, es necesario trabajar en un área limpia, como el cuarto limpio clase 100/10000 utilizado en este trabajo. Como complemento se requiere tener agua y reactivos de la calidad apropiada que presenten bajo contenido de mercurio y realizar un

procedimiento de lavado del material como el mencionado en este trabajo.

AGRADECIMIENTOS

Al programa SIDEPRO (Sistema de Desarrollo Profesional) del CENAM por la beca otorgada como apoyo para la realización de la tesis de licenciatura del estudiante Juanito Carrasco Benítez.

A los integrantes de la división de materiales metálicos del área de metrología de materiales por las facilidades otorgadas para la realización de este trabajo.

REFERENCIAS

- [1] El planeta Tierra funciona con agua, http://www.aguacam.com/materiales/pdf/aguame diterraneo/el_planeta_tierra_funciona_con_agua.pdf, fecha de consulta: 19 de mayo de 2008.
- [2] Comunicado de prensa del PNUMA 2006, La escasez de agua dulce, la ingeniería de cauces de ríos, la contaminación y la pesca excesiva destacan en la evaluación mundial de aguas internacionales, <http://www.pnuma.org/informacion/comunicados/2006cp13/index.htm>, fecha de consulta: 19 de mayo de 2008.
- [3] Propuesta de directiva del parlamento europeo y del consejo relativo a las normas de calidad ambiental en el ámbito de la política de aguas y por la que se modifica la Directiva 200/60/CE,

<http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=COM:2006:0397:FIN:ES:PDF> fecha de consulta: 19 de mayo de 2008.

- [4] Método EPA 1631, Revision B: *Mercury in water by oxidation, purge and trap, and cold vapor atomic fluorescence spectrometry*, May 1999.
- [5] S. Mc Intosh, *The determination of mercury at ultra-trace levels using an automated amalgamation technique*, *Atomic Spectroscopy*, 1993, vol. 14, No. 2, pp 47-49
- [6] Eurachem/CITAC Working Group, *Quantifying uncertainty in analytical measurement*, UK, segunda edición, 2000.