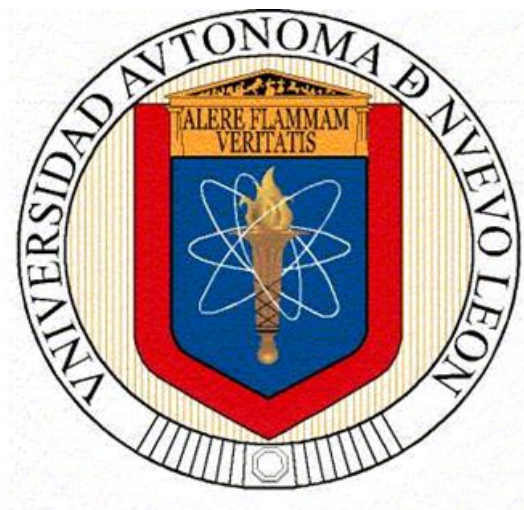


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**



**FRACCIONAMIENTO Y ESPECIACIÓN DE MERCURIO EN ZONAS CON
ACTIVIDAD MINERA DE SAN LUIS POTOSÍ Y SU EVALUACIÓN
DEL RIESGO POTENCIAL PARA LA SALUD HUMANA**

PRESENTA

Q. B. P. GABRIELA ELIZABETH QUINTANILLA VILLANUEVA

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN
EN QUÍMICA ANALÍTICA AMBIENTAL**

ENERO, 2018

**FRACCIONAMIENTO Y ESPECIACIÓN DE MERCURIO EN ZONAS CON
ACTIVIDAD MINERA DE SAN LUIS POTOSÍ Y SU EVALUACIÓN DEL RIESGO
POTENCIAL PARA LA SALUD HUMANA**

Comité Tutorial:

Dra. Laura Hinojosa Reyes
Directora de Tesis

Dra. Minerva Villanueva Rodríguez
Co-Directora de Tesis

Dra. Isabel Sáenz Tavera
Secretaria

Dr. Juan Manuel Alfaro Barbosa
Vocal

Dra. Alcione García González
Vocal (Suplente)

FRACCIONAMIENTO Y ESPECIACIÓN DE MERCURIO EN ZONAS CON ACTIVIDAD MINERA DE SAN LUIS POTOSÍ Y SU EVALUACIÓN DEL RIESGO POTENCIAL PARA LA SALUD HUMANA

Resumen

Gabriela Elizabeth Quintanilla Villanueva

Fecha de graduación: Enero, 2018

Título del proyecto: FRACCIONAMIENTO Y ESPECIACIÓN DE MERCURIO EN ZONAS CON ACTIVIDAD MINERA DE SAN LUIS POTOSÍ Y SU EVALUACIÓN DEL RIESGO POTENCIAL PARA LA SALUD HUMANA

Número de páginas: 96

Candidata para obtener el grado de Maestría en Ciencias con Orientación en Química Analítica Ambiental

**Área de estudio: Química Analítica Ambiental
Universidad Autónoma de Nuevo León/ Facultad de Ciencias Químicas**

Propósito y Método de Estudio: en el presente trabajo, se evaluó el riesgo por exposición a Hg en zonas aledañas a minas abandonadas (7 puntos de muestreo) de Villa Hidalgo, S.L.P., determinando Hg total en agua y suelo, analizando diferentes fracciones de Hg (mediante el método de fraccionamiento secuencial, denominado BCR) y realizando la especiación de Hg en suelo. Se realizó la caracterización fisicoquímica de las muestras de agua y suelo, además de la determinación de la composición mineral del suelo. El análisis de Hg total en suelo y agua se realizó por Espectrofotometría de Fluorescencia Atómica con Generador de Vapor (VG-AFS) con límite de detección (LOD) de 0.02 µg/kg. Para determinar Hg total en las muestras de suelo se utilizó digestión ácida asistida por microondas empleando HNO₃: HCl: H₂O₂ (4:1:2) a 180°C durante 20 min. Para la especiación de Hg en suelos, se llevó a cabo la extracción con HNO₃ 4M a 100°C/10 min y posteriormente, la determinación de Hg²⁺ y CH₃Hg⁺ por medio de HPLC-VG-AFS (LOD de 2.87 µg/kg y 2.03 µg/kg para Hg²⁺ y CH₃Hg⁺, respectivamente).

Contribuciones y Conclusiones: el agua y suelo de la zona de estudio fue alcalina con valores de pH entre 7.5-8.6 y 7.4-8.0, respectivamente. El suelo presentó bajo contenido de materia orgánica (45 a 85 mg/kg de carbono orgánico total) y estaba conformado principalmente por minerales cuya composición fueron silicatos de Fe, Mn, Ca, Al y K. La concentración de Hg total en agua fue de 0.08-0.37 µg/L, siendo menor al límite máximo permitido por la NOM-127-SSA-1994 para agua de consumo

humano ($1 \mu\text{g/L}$). Únicamente la muestra de suelo TP1 ($41.8 \pm 1.8 \text{ mg Hg/kg}$) excedió el límite establecido por la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 para suelos agrícolas. Mediante el procedimiento de fraccionamiento secuencial BCR se encontró que $83.9 \pm 6.2\%$ del Hg estaba enlazado en la fracción residual (lo cual limita su movilidad y disponibilidad); $13.1 \pm 6.7\%$ en la fracción oxidable (probablemente asociado a sulfuros y la superficie de la materia orgánica) y $3.0 \pm 2.2\%$ como fracción disponible para los seres vivos (fracción extraíble + fracción reducible). Las metodologías para determinación de Hg total en agua, así como la determinación de Hg^{2+} y CH_3Hg^+ y suelo, fueron validadas y se encontró que eran incluso mejores que otras metodologías donde se utilizaba ICP-MS como detector. En cuanto a los resultados de especiación, en ninguna de las muestras de suelo se detectó CH_3Hg^+ , mientras que el Hg^{2+} fue la especie mayoritaria en concentraciones de 101 a 1841 $\mu\text{g/kg}$. De acuerdo a los valores de los coeficientes e índices de riesgo (<1), se descartó el riesgo de daños no carcinogénicos; no obstante, podría existir riesgo a largo plazo, principalmente en niños.

Firma de la asesora de tesis: _____

AGRADECIMIENTOS

Mi más sincero agradecimiento a quienes hicieron posible la realización de este proyecto:

A Dios, quien acomodó las circunstancias y puso a las personas correctas en mi camino y sin Él, nada sería posible.

A mis padres, por su apoyo, amor incondicional, darme aliento en los momentos difíciles y acompañarme en todas las circunstancias.

A la Dra. Laura Hinojosa Reyes, mi directora de tesis, por guiarme a través de este proceso, compartir sus conocimientos y por toda su paciencia y ardua dedicación a este trabajo.

A la Dra. Minerva Villanueva Rodríguez, mi co-directora de tesis, tanto por su apoyo académico, opiniones y sugerencias, como por todas las atenciones que tuvo hacia mi persona.

Al Dr. Jorge Luis Guzmán Mar, por toda su paciencia y su apoyo tanto a nivel teórico como técnico.

Al Dr. Juan Manuel Alfaro Barbosa, la Dra. Isabel Sáenz Tavera y la Dra. Alcione García González por sus valiosas aportaciones como parte del Comité de evaluación de Tesis.

A la Dra. Aracely Hernández Ramírez por las facilidades otorgadas en el desarrollo de este proyecto.

A mis compañeros del Laboratorio de Fotocatálisis y Electroquímica Ambiental quienes de alguna u otra manera me ofrecieron su apoyo y por hacer un agradable ambiente de trabajo.

Al M.C. David Torres Gaytán y el Ing. Víctor Martínez Ruiz, del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica A.C. (IPICYT), por su apoyo en las labores de muestreo.

A la M.C. Gabriela Orozco del Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico (CIDT-Peñoles) por las facilidades otorgadas para el uso de equipos y realización de pruebas durante la estancia de investigación.

A la Facultad de Ciencias Químicas (FCQ) de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL) por permitirme el uso de sus equipos e instalaciones y por todas las facilidades que me otorgaron.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) a través de la beca de maestría (número de becario CONACYT: 740156) y UANL por el apoyo económico para la realización de este trabajo.

A la Fundación UANL por el apoyo económico brindado para poder llevar a buen término este proyecto.

DEDICATORIA

A mis padres.

TABLA DE CONTENIDO

1 INTRODUCCIÓN	1
1.1 ANTECEDENTES.....	6
1.1.1 Evaluación de contaminación por mercurio y otros metales en sitios con actividad minera	6
1.1.2 Fraccionamiento de Hg en suelos y extracción de CH ₃ Hg ⁺	9
1.1.3 Métodos de análisis para determinación de especies de mercurio	12
1.1.4 Análisis de riesgo en zonas contaminadas con mercurio	13
1.1.5 Análisis crítico de la literatura	15
1.1.6 Alcance del proyecto	17
1.2 MARCO TEÓRICO.....	17
1.2.1 Mercurio en el ambiente y su toxicidad	17
1.2.2 Fraccionamiento y especiación química.....	19
1.2.3 Métodos analíticos para determinación de mercurio	20
1.2.4 Tipos de suelo en San Luis Potosí y sus características.....	22
1.3 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	24
1.3.1 Hipótesis.....	24
1.3.2 Objetivo general	24
1.3.3 Objetivos específicos	24
2 MATERIALES Y MÉTODOS	26
2.1 Descripción general de la metodología del proyecto de tesis.....	26
2.2 Materiales y reactivos	27
2.3 Muestreo.....	30
2.4 Caracterización fisicoquímica de muestras de agua.....	33
2.5 Determinación de Fe y Mn en las muestras de agua.....	34
2.6 Caracterización fisicoquímica de muestras de suelo.....	34
2.6.1 Análisis de la composición elemental del suelo por Fluorescencia de Rayos X.....	35
2.6.2 Análisis de composición mineral por microscopía electrónica con Electrones Retrodispersados y Rayos X.....	36
2.6.3 Análisis de parámetros fisicoquímicos de muestras de suelo.....	38
2.7 Digestión ácida de las muestras de suelo.....	40
2.8 Determinación de mercurio total en suelo y agua.....	40
2.8.1 Método de determinación de Hg mediante VG-AFS.....	41
2.8.2 Método de digestión asistida por microondas para determinación de Hg total en suelo	45
2.9 Fraccionamiento de mercurio en muestras de suelo.....	45
2.10 Especiación de Hg en suelo por HPLC-VG-AFS.....	47
2.10.1 Condiciones de análisis para la especiación de Hg por HPLC-VG-AFS.....	47

2.10.2 Extracción de especies de Hg en suelo y validación del método de especiación.....	50
2.11 Evaluación del riesgo a la salud humana por metilmercurio y Hg soluble.....	50
3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	52
3.1. Características de las muestras de agua y suelo de Villa Hidalgo.....	52
3.1.1 Caracterización fisicoquímica de muestras de agua y suelo.....	52
3.1.2 Determinación de la composición elemental y mineral de las muestras de suelo.....	60
3.2 Determinación de Hg total en agua, suelo y extractos acuosos.....	62
3.3 Fraccionamiento de Hg en muestras de suelo mediante procedimiento BCR.....	64
3.4 Análisis de correlación entre distintos parámetros fisicoquímicos.....	66
3.5 Especiación de Hg en muestras de suelo.....	68
3.5.1 Condiciones de extracción de las especies de Hg en suelo.....	68
3.5.2 Especiación de mercurio en muestras de suelo.....	68
3.6 Evaluación de riesgo por ingestión de Hg en niños y adultos.....	70
4 CONCLUSIONES	75
5 REFERENCIAS.....	77
ANEXOS	85
Anexo 1: Implementación de método para la determinación de Hg por VG-AFS.....	85
Anexo 2: Implementación del método de digestión de suelos para determinación de Hg total.....	88
Anexo 3: Implementación de las condiciones de extracción de especies de Hg en suelos.....	91

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1 Principales especies de mercurio que se encuentran en el ambiente.....	2
Tabla 2.1 Coordenadas y claves de los sitios de muestreo	32
Tabla 2.2 Condiciones operativas del equipo de cromatografía de intercambio iónico	39
Tabla 2.3 Condiciones instrumentales para determinación de Cd, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn en muestras de suelo	39
Tabla 2.4 Condiciones operativas del VG-AFS	42
Tabla 2.5 Parámetros analíticos para la determinación de Hg por VG-AFS	44
Tabla 2.6 Condiciones operativas para especiación de Hg por HPLC-VG-AFS con oxidación post-columna	48
Tabla 2.7 Parámetros de calidad del método de especiación de mercurio en suelo.....	50
Tabla 3.1 Caracterización fisicoquímica de muestras de agua de pozo	53
Tabla 3.2 Caracterización fisicoquímica de muestras de suelo	57
Tabla 3.3 Resultados de la determinación de Cd, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn totales en suelo por Espectrofotometría de Absorción Atómica	60
Tabla 3.4 Concentración de Hg total en muestras de agua de pozo	63
Tabla 3.5 Concentración de Hg total en suelo y extractos acuosos de muestras de suelo....	63
Tabla 3.6 Correlaciones de Pearson significativas entre Hg total en suelo y parámetros fisicoquímicos del suelo.....	67
Tabla 3.7 Resultados de especiación de las muestras de suelo y porcentaje que representan respecto al Hg total por digestión	69
Tabla 3.8 Ingesta Total Diaria (TDI) de Hg en agua y suelo en niños y en cada fase del fraccionamiento por BCR	71
Tabla 3.9 Ingesta Total Diaria (TDI) de Hg para adultos en cada fase del fraccionamiento por BCR, en análisis de Hg en agua y suelo	72
Tabla 3.10 Coeficientes de riesgo (HQ) e índices de riesgo (HI) por exposición a Hg en niños en base a las fracciones obtenidas por BCR en suelo y Hg total en agua	74
Tabla 3.11 Coeficientes de riesgo (HQ) e índices de riesgo (HI) por exposición a Hg en adultos en base a las fracciones obtenidas por Hg en agua y BCR en suelo	74
Tabla A1 Concentraciones evaluadas de NaOH, NaBH ₄ y HCl para la determinación de Hg por VG-AFS	85
Tabla A2 Métodos de digestión asistidos por microondas evaluados para la determinación de Hg total en suelo	88
Tabla A3 Métodos de extracción evaluados para la determinación de CH ₃ Hg ⁺ en suelo.....	91
Tabla A4 Comparación entre agentes extractantes para especiación de mercurio en suelos	92

Tabla A5 Resultados de recuperación de Hg^{2+} y CH_3Hg^+ en el suelo del sitio CC2..... 94

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Esquema de los componentes del sistema acoplado HPLC-VG-AFS	21
Figura 2.1 Metodología general llevada a cabo en este estudio	27
Figura 2.2 Mapa con la ubicación de los sitios de muestreo en Villa Hidalgo, SLP	32
Figura 2.3 Determinación de composición elemental por fluorescencia de rayos X.....	36
Figura 2.4 Preparación y análisis de composición mineral de muestras de suelos.....	37
Figura 2.5 Curva de calibración para la determinación de Hg con VG-AFS	43
Figura 2.6 Cromatograma de estándares de Hg ²⁺ y CH ₃ Hg ⁺ (50 µg/L c/u) por HPLC-VG-AFS con oxidación post-columna.....	49
Figura 3.1 Composición elemental de las muestras de suelo	61
Figura 3.2 Composición porcentual de los minerales presentes en las muestras de suelo de Villa Hidalgo	62
Figura 3.3 Fraccionamiento secuencial BCR de mercurio en muestras de suelo de Villa Hidalgo. La fracción disponible es la suma de las fracciones extraíble y reducible	65
Figura A1. Efecto de a) concentración de NaBH ₄ , b) concentración de NaOH, c) concentración de HCl, y d) temperatura sobre la intensidad de fluorescencia para estándar de Hg ²⁺ 10 µg/L	86
Figura A2 Porcentajes de recuperación de Hg total en suelo (material de referencia ERA060) para los métodos de digestión ácida asistidos por microondas	89
Figura A3 Cromatogramas de especiación de muestra CC2: a) muestra CC2 sin enriquecer y b) muestra CC2 enriquecida con Hg ²⁺ y CH ₃ Hg ⁺ (50 µg/kg de c/u).....	93

NOMENCLATURA

α : nivel de significancia

°C: grados Celsius

μg : microgramo

μm : micrómetros

μS : micro Siemens

AFS: Espectrometría de Fluorescencia Atómica

ANOVA: Análisis de Varianza

AT: tiempo promedio de exposición

BCR: Oficina de Referencia de la Comunidad Europea

BVSDE: Biblioteca Virtual de Desarrollo Sostenible y Salud Ambiental

BW: peso corporal

C18: columna cromatográfica de octadecilsilano

CC: sitio "Charco-Cercado"

C_{exp} : concentración en el punto de exposición

CH: sitio "Chancaquero"

Cl^- : cloruros

cm: centímetros

COT: carbono orgánico total

CRM: material de referencia certificado

CY: sitio "El Coyote"

D: dosis de ingesta diaria o TDI

EA-UK: Agencia Ambiental del Reino Unido

EDTA: ácido etilendiaminotetraacético

EF: frecuencia de exposición

EPA: Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos

g: gramo

GC: cromatografía de gases

h: horas

HI: índice de riesgo

HLPC: Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia

HPLC-ICP-MS: Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia acoplada a Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado por Inducción

HPLC-VG-AFS: Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia acoplada a Espectrometría de Fluorescencia Atómica con Generador de Vapor

HQ: coeficiente de riesgo

HQi: coeficiente de riesgo por una vía específica, “i” corresponde a la vía de ingestión, ya sea agua, suelo, etc.

ICP-MS: Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado por Inducción

ICP-OES: Espectrometría de emisión óptica con plasma de acoplamiento inductivo

INECC: Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático

INEGI: Instituto Nacional de Estadística y Geografía

IUPAC: Unión Internacional de Química Pura y Aplicada

kg: kilogramo

L: litro

LC: sitio "Llano del Carmen"

LOD: límite de detección

LOQ: límite de cuantificación

M: molaridad (mol/L)

mg: miligramos

min: minutos

mL: mililitros

mM: milimolar

MW: microondas

n: número de réplicas

NAP: National Academy Press

ng: nanogramo

NIH: National Institute of Health

NK: "Natural Killer"

OD: oxígeno disuelto

OMS: Organización Mundial de la Salud

PC: sitio "El Pocito"

pH: potencial de hidrógeno

PR: sitio "El Parador"

R: correlación lineal

r^2 : coeficiente de correlación

RFD: dosis de referencia

RIIQ: Red de Intercambio de Información Química

R_{ing} : tasa de ingestión

rpm: revoluciones por minuto

RSD: desviación estándar relativa

s: segundos

SE: Secretaría de Economía

SEMARNAT: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales

SGM: Sistema Geológico Mexicano

SSA: Secretaría de Salud

TDI: dosis de ingesta diaria

TP: sitio "La Tapona"

v/v: volumen/volumen

VG: Generador de Vapor

VG-AAS: Espectrometría de Absorción Atómica con Generador de Vapor

1 INTRODUCCIÓN

A lo largo de la historia, actividades antropogénicas como la minería han sido una fuente muy importante de contaminación ambiental en suelos, agua subterránea y agua superficial, siendo el mercurio (Hg) uno de los principales metales detectados [1]. En México, existen varias zonas mineras localizadas en los estados de Guerrero, Guanajuato, Hidalgo, Chihuahua, San Luis Potosí, Querétaro y Zacatecas [2], entre otros; donde fueron fundados pueblos y ciudades alrededor de esta actividad. La región minera del municipio de Villa Hidalgo, en el estado de San Luis Potosí presenta una zona con minas abandonadas de mercurio, plata, antimonio, plomo y zinc [3], lo cual representa un riesgo para la población, ya que se ha descrito que en zonas aledañas a minas se presentan mayores concentraciones de Hg, en comparación con sitios donde no hay actividad minera [4]. Por ejemplo, en zonas no contaminadas de La Soterraña y Los Ruedos, en Asturias, España, las concentraciones de Hg en suelos no contaminados se encontraron en un rango de 0.01 y 0.2 mg/kg, mientras que en sitios con actividad minera se reportaron concentraciones desde 36 hasta 1709 mg/kg [5].

El Hg es un metal altamente tóxico, que ha sido catalogado como contaminante prioritario por la Agencia de Protección Ambiental (EPA, por sus siglas en inglés) [6]. Para la Organización Mundial de la Salud (OMS) [7], el Hg es una de las diez sustancias químicas que representan un problema de salud pública.

Este elemento puede encontrarse en diferentes formas químicas en muestras ambientales y transformarse en una variedad de especies, dependiendo de las condiciones fisicoquímicas del medio donde se encuentra el metal. La toxicidad, biodisponibilidad y movilidad del mercurio está relacionada con su forma química, siendo la especie metilmercurio (CH_3Hg^+) la que presenta mayor biodisponibilidad y toxicidad en comparación con especies inorgánicas solubles, como cloruro de mercurio (HgCl_2) y mercurio elemental (Hg^0). Por otro lado, los óxidos e hidróxidos de mercurio y el sulfuro de mercurio (HgS) presentan la menor toxicidad y movilidad en el ambiente, debido a su baja solubilidad en agua. En la Tabla 1.1 se describen algunas de las principales especies químicas de mercurio que se pueden encontrar en muestras de interés ambiental, ordenadas en base a su grado de toxicidad, según lo descrito por la Agencia Ambiental del Reino Unido.

Tabla 1.1 Principales especies de mercurio que se encuentran en el ambiente

Especie de Hg	Solubilidad (g/L)	Toxicidad ^a ($\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corporal al día)	Referencia
CH_3Hg^+	1.1 (como CH_3HgCl)	0.23	[8, 9]
HgCl_2	69	2.0	[8, 9]
Hg^0	5.6×10^{-5}	1.0	[8, 9]
HgO	0.053	1.0	[8, 10]
HgS	5.2×10^{-25} ($\text{pK}_{\text{ps}}=53.3$)	1.0	[9, 11]

^aCantidades mínimas requeridas para que causen daños apreciables a la salud.

El CH_3Hg^+ tiene efectos nocivos sobre el desarrollo del sistema nervioso, causando problemas como déficit cognitivo en personas expuestas a cantidades moderadas de la toxina en etapas prenatales (enfermedad de Minamata) [12]. En adultos, el

CH_3Hg^+ también produce envenenamiento por absorción a través de la piel, causando dolor de extremidades, erupciones con picazón, sudoración, salivación, debilidad y cambios de humor [13]. La intoxicación por este metal causa daños principalmente a cerebro, estómago, pulmones, sistema inmunitario y riñones [7].

A nivel celular, el mercurio causa disrupción del potencial de la membrana e interrumpe la homeostasis intracelular del calcio. También daña las estructuras terciarias y cuaternarias de las proteínas y altera la función celular al unirse a los grupos selenohidril y sulfhidril. Otro de sus efectos es que interfiere en el proceso de transcripción y traducción, causando la desaparición de los ribosomas y la erradicación del retículo endoplásmico y la actividad de las células NK (*"natural killer"*) del sistema inmune [14].

En base a lo anterior, es importante evaluar el grado de contaminación por Hg en suelos con actividad minera comparando los resultados con las concentraciones de referencia. En México, en lo referente al agua de uso y consumo humano, la NOM-127-SSA-1994 [15] establece como límite permisible 1 μg Hg/L. Del mismo modo, en los Estados Unidos, la EPA establece también 1 μg /L como límite máximo permisible de mercurio total en agua potable, para recreación de contacto primario y para la industria de procesamiento de alimentos [16]. Por otro lado, la Norma Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 [17], establece como valor máximo permisible para mercurio total en suelos de uso agrícola y residencial, 23 mg/kg en base a peso seco. En cuanto a CH_3Hg^+ en aguas y suelos, no existe actualmente una legislación aplicable en cuanto a niveles permisibles en México o en otras partes del mundo.

Como se describió anteriormente, el CH_3Hg^+ es la especie química más tóxica, por ello, además de cuantificar el Hg total, es necesario realizar estudios de especiación química del Hg para determinar si se encuentra en formas químicas disponibles para los seres vivos y de este modo evaluar el riesgo a la salud humana. Debido a que en México no existen referencias donde se establezcan límites máximos permisibles para especies como Hg^{2+} y CH_3Hg^+ , se pueden comparar los resultados obtenidos con referencias extranjeras, como los límites de ingesta diaria tolerable establecidos por la Agencia Ambiental del Reino Unido: 2 y $0.23 \mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corporal al día para Hg^{2+} y CH_3Hg^+ respectivamente (Tabla 1.1) [9].

Una manera de llevar a cabo estudios de especiación para conocer la movilidad y toxicidad de Hg en suelo y así inferir sobre la disponibilidad de este metal en suelos y evaluar riesgos de toxicidad para los organismos vivos, es mediante el fraccionamiento en base a la solubilidad de las diversas formas químicas y mediante la especiación en suelos empleando métodos de extracción para las especies de interés y técnicas analíticas acopladas que incluyen separación cromatográfica y detección atómica. Dentro de los procedimientos empleados para conocer la proporción del metal en cada fracción del suelo, se encuentran los procedimientos de extracción secuencial o fraccionada, los cuales permiten evaluar la movilidad y solubilidad del metal. Estos procedimientos han sido utilizados para la especiación geoquímica de contaminantes en suelos y sedimentos, empleando agentes extractantes con diferente fuerza de elución, cuyas fracciones obtenidas son asociadas con diferentes formas químicas del Hg en el suelo.

Uno de estos, es el procedimiento BCR (“Community Bureau of Reference”), que

consiste en una secuencia de pasos donde se extrae el metal, desde su forma más soluble hasta la menos soluble o la fracción residual [18]. Estos procedimientos permiten obtener información sobre la disponibilidad, movilidad y retención de Hg en suelos [19].

Adicionalmente, para comprender mejor la disponibilidad del Hg es muy útil complementar los estudios de fraccionamiento y de especiación con la caracterización del suelo y agua, por medio de la determinación de parámetros fisicoquímicos, como concentración de cloruros, pH, conductividad, oxígeno disuelto, y materia orgánica disuelta, ya que son factores que influyen en la solubilidad y en la predominancia de diferentes especies de Hg en muestras ambientales.

Debido a la problemática ambiental que supone la presencia de Hg, aunado a que en sitios con actividades de extracción de minerales se han detectado elevadas cantidades de este metal [3], existe la necesidad de adquirir mayor conocimiento sobre el peligro por exposición a Hg para la población, en zonas como el municipio de Villa Hidalgo, en San Luis Potosí, el cual no ha sido estudiado previamente. Por lo que en el presente trabajo se determinó Hg total en suelo y agua, del mismo modo, se realizó la cuantificación de las diferentes formas químicas del Hg, mediante estudios de fraccionamiento secuencial y especiación, lo que permitió evaluar el riesgo potencial para la población humana.

1.1 ANTECEDENTES

1.1.1 Evaluación de contaminación por mercurio y otros metales en sitios con actividad minera

Li y colaboradores [20] realizaron un estudio en Guizhou, en el suroeste de China, donde se evaluó el contenido de Hg total en jales, suelos de zonas cercanas a minas y corrientes de agua. Como resultado, encontraron niveles de Hg en suelos agrícolas entre 1.3 y 360 mg/kg, en residuos mineros de 3.3-810 mg/kg y en muestras de agua entre 0.043 y 2.1 µg/L, excediendo en algunos casos los límites máximos permitidos para suelo y agua [15, 17].

En México también existen estudios que indican que actividades relacionadas con la minería han incrementado las concentraciones de Hg y de otros metales pesados excediendo los límites establecidos por la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 [17] en suelos.

Un ejemplo de ello, es el trabajo realizado por Martínez-Trinidad y colaboradores [21] en una zona minera ubicada en San Joaquín, Querétaro, donde determinaron la concentración de Hg total en el sistema aire-suelo-planta-agua. Los análisis de Hg se realizaron empleando un analizador directo de Hg sin pre-tratamiento de muestra, basado en espectroscopia de absorción atómica (AAS). Para el caso de las muestras de suelo, se encontraron concentraciones de Hg total que excedieron el límite máximo permitido por la normativa mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 [17]. Los valores encontrados fueron de 2.4-4164 mg/kg en terrenos de minas,

0.5-314 mg/kg en suelos agrícolas y 0.2-69 mg/kg en suelos forestales. Así mismo, analizaron muestras de agua potable y de lluvia por espectrometría de emisión óptica con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES). Los autores encontraron concentraciones entre 1.5 y 339 $\mu\text{g/L}$ para agua de lluvia, mayor que en agua potable (0.01-0.17 $\mu\text{g/L}$), debido principalmente a las partículas suspendidas en el aire y depositadas en la superficie. En cuanto al aire, encontraron concentraciones de 22-153 ng/m^3 las cuales se consideran como peligrosas para la salud, ya que de acuerdo a la Agencia Ambiental del Reino Unido [9], la ingesta tolerable diaria por inhalación debe ser de 200 ng/día , tomando en cuenta que la cantidad en metro cúbico de aire inhalado por día es de 23, 21 y 15 m^3 , para hombres, mujeres y niños de 10 años, respectivamente [22]. Asimismo, también se ha encontrado que el Hg se acumula a través de la cadena trófica, ya que las plantas pueden tomarlo del suelo si se encuentra en formas disponibles y acumularlo en tejidos [23].

Por otro lado, el estudio realizado por Páez-Osuna y colaboradores [24], demostró que jales mineros han sido fuente de contaminación de agua y sedimentos cercanos al Río San Lorenzo, en Sinaloa.

González-Dávila y Ruiz-Huerta [25] determinaron la concentración total de metales (Pb, Cd, Fe, Cu y Mn) en muestras de suelos y plantas en áreas agrícolas de Guadalupe, Zacatecas, zona con antecedentes de actividad minera. La determinación se realizó por fluorescencia dispersiva de rayos X. Las muestras se analizaron directamente sin realizar tratamiento previo. Los resultados mostraron concentraciones entre 16.7 y 37.7 mg/kg para Hg total en muestras de suelo, excediendo en algunos casos el límite de 23 mg/kg que establece la NOM-147-

SEMARNAT/SSA1-2004. En cuanto a las concentraciones de Hg en plantas, éstos fueron inferiores al límite de detección del método (20 µg/g).

Además, existen otros estudios de zonas cercanas a minas abandonadas, como el realizado por Ogura y colaboradores [26] en Lampotal municipio de Vetagrande, Zacatecas, donde se reportaron concentraciones de Hg total en suelo superiores al límite máximo permitido por la normativa mexicana. La concentración de Hg total promedio fue de 122 mg/kg para las 10 muestras de jales analizadas que fueron tratadas por digestión ácida, mientras que cuando fueron sometidas a un proceso de lixiviación utilizando buffer acetato-ácido acético, la concentración promedio fue de 27 mg/kg, lo cual indica un porcentaje de Hg soluble de aproximadamente el 22% del Hg total.

En otro estudio, Levresse [27] analizó el contenido de metales pesados (Sb, Fe, Zn, Ar, Cu y Hg), en muestras de jales, sedimentos, plantas y agua en el distrito minero Wadley Sb, en San Luis Potosí. El análisis del contenido total se realizó por Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado por Inducción (ICP-MS) con generador de vapor (VG) previa digestión ácida asistida por microondas de las muestras sólidas empleando HNO₃ concentrado. Para el caso de muestras procedentes de jales de minas, las concentraciones Hg estuvieron entre 15.5 y 53.1 mg/kg y el 75% de las muestras excedieron los valores establecidos por la normativa mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 [17] para Hg total en suelo.

En otro estudio también realizado en San Luis Potosí, pero en la zona de Cedral [28], se determinó el contenido de Hg total en 12 muestras de jales y suelos, así como en 20 muestras de sangre de los habitantes de la comunidad mediante

espectroscopia de absorción atómica con generador de vapor (VG-AAS), previa digestión ácida de las muestras sólidas asistida por microondas en HNO₃ concentrado. En el caso de muestras de suelo y jales, se analizó el Hg contenido en la fracción soluble (extracción con H₂O a temperatura ambiente durante 120 min) y fracción residual (digestión con 10 mL de agua regia, 170°C/ 20 min). Las concentraciones de Hg total en suelos variaron entre 1 a 55.8 mg/kg, de los cuales la fracción soluble fue de 0.01 a 0.68% del Hg total, el Hg residual (principalmente como sulfuro de Hg) fue 85.5 a 97.1% y el elemental de 2.9 a 13.8%. Aunque el porcentaje de Hg soluble en suelo fue menor a 1%, no se evaluó la forma química en la que este se encontraba presente (CH₃Hg⁺ o HgCl₂). Por otro lado, la concentración de Hg total en sangre detectada en niños que habitan en la zona de estudio fue mayor a 76.8 µg/L. De acuerdo a la regulación establecida en Alemania [29], se considera 1 µg/L de Hg total en sangre como un valor seguro para niños de 6 a 12 años, lo que indicó una alta disponibilidad de Hg en la zona de estudio, o bien, la posibilidad de otras fuentes de contaminación no consideradas en el estudio como pueden ser agua potable y/o alimentos.

1.1.2 Fraccionamiento de Hg en suelos y extracción de CH₃Hg⁺

Sahuquillo y colaboradores [19] realizaron el fraccionamiento de Hg en sedimentos, aplicando el procedimiento BCR que constó de tres etapas: 1) CH₃COOH 0.1 M, a temperatura ambiente/16 h; 2) NH₂OH.HCl 0.5 M a pH 1.5 durante 16 h; 3) digestión con H₂O₂ 30% y NH₄OAc 1M pH 2 a 85°C/16 h y 4) digestión con agua regia. El

64% del Hg se encontró asociado a la fracción residual (etapa 4), mientras que entre 5 y 50% estuvo unido a la fracción soluble.

Morton y colaboradores [28] realizaron el fraccionamiento secuencial de Hg en 2 etapas en jales y suelos, que consistió en: 1) extracción de fase soluble con agua a temperatura ambiente y 2) extracción de la fracción residual con agua regia (HNO_3 /HCl 1:3). Se determinó que entre 0.01 y 0.68 % del Hg total se encontró unido a la fracción soluble y que el 85-97 % del Hg estaba unido a la fracción residual.

Por otra parte, Lou y colaboradores [30] emplearon el fraccionamiento de Hg en muestras de sedimentos en 6 etapas: 1) MgCl_2 1M, 2h/temperatura ambiente. 2) NaOAc 1M, 5 h/temperatura ambiente, 3) $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0.25 M, 3 h/temperatura ambiente, 4) $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ 0.25 M + HCl 0.25 M, 6h/temperatura ambiente, 5) H_2O_2 30 % (v/v)+ 0.02 M HNO_3 , 2.5 h/83°C y 6) HCl + HNO_3 + HClO_4 , calentamiento convencional. En las muestras de sedimento se encontró que el 30.7 % del Hg estuvo enlazado a materia orgánica, mientras que el 39.3 % del Hg estaba unido a la fracción residual.

Por otro lado, para la extracción de especies de Hg en suelo se han empleado diferentes procedimientos, asistidos en algunos casos por microondas o extracción por calentamiento convencional como se describe a continuación:

Carrasco y Vassileva [31] determinaron CH_3Hg^+ en sedimentos analizando materiales de referencia certificados y aplicando 4 procedimientos de extracción: 1) 0.5 % de 2-mercaptoetanol en 5 % v/v de metanol y extracción asistida por microondas 120°C/15 min, 2) CuSO_4 1 M y 4 mL de HNO_3 3 M, agitación durante 30 min y extracción en CH_2Cl_2 , 3) KOH 25 % (p/p) en metanol, 75°C/180 min en

calentamiento convencional y extracción con CH_2Cl_2 , y 4) HNO_3 3M/ CuSO_4 1 M a temperatura ambiente y posterior extracción con CH_2Cl_2 y extracción con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. La detección se realizó por GC-pirólisis-AFS y se obtuvieron porcentajes de recuperación para CH_3Hg^+ de 20, 92, 83 y 94 % empleando los métodos 1 al 4, respectivamente.

Jagtap y colaboradores [32] determinaron CH_3Hg^+ en muestras de tejidos de pescado y sedimentos empleando extracción asistida por microondas a 120°C / 15 min con 2-mercaptoetanol 0.5 % en metanol 5 % v/v. La determinación se llevó a cabo por HPLC-ICP-MS y se obtuvieron porcentajes de recuperación para CH_3Hg^+ de 92 ± 3 %.

Por otro lado, un equipo de investigadores [5] realizaron la especiación de Hg en suelos de minas empleando para la extracción CuBr_2 0.3 M en HCl al 50 % v/v a temperatura ambiente, extracción con tolueno y posterior extracción con N-acetilcisteína 3.7 mM. La cuantificación de especies de Hg se realizó por HPLC-VG-AFS, obteniendo porcentajes de recuperación para CH_3Hg^+ del 95 %.

En otro estudio, Rahman y colaboradores [33], realizaron la extracción asistida por microondas de CH_3Hg^+ en suelos y sedimentos con HNO_3 4 M a 100°C , posteriormente cuantificaron la especie de mercurio por HPLC-ICP-MS. Como resultado obtuvieron 105 ± 5 % de recuperación para CH_3Hg^+ en muestras enriquecidas. Este procedimiento fue adoptado posteriormente por la EPA como método oficial para la especiación en sedimentos "Método 3200" [34].

1.1.3 Métodos de análisis para determinación de especies de mercurio

Para la determinación de especies de Hg en suelos y sedimentos se han utilizado principalmente métodos que emplean la cromatografía de líquidos (HPLC) acoplada a ICP-MS. Para la separación de especies de mercurio se utiliza la cromatografía de fase reversa, empleando columnas C18. Empleando estas metodologías de análisis se ha alcanzado un límite de detección (LOD) de 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ para CH_3Hg^+ [32]. En otros estudios, la técnica de HPLC se ha acoplado a AFS [5] logrando LOD de 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y con un costo de operación mucho menor que por ICP-MS.

Para la separación cromatográfica de especies de mercurio se ha reportado como fase móvil el uso de L-cisteína en acetato de amonio 0.06 M [23], 0.5 % v/v de 2-mercaptoetanol en metanol al 5% v/v (pH 5.3) [32], acetato de amonio 0.05 M y L-cisteína 10 mM: metanol (96:4) % v/v [31] o N-acetil-L-cisteína (NAC) 10 mM en acetato de amonio 0.06 M a pH 5.5 [5].

En el caso de metodologías de análisis donde se aplican técnicas como HPLC-VG-AFS, para determinación de especies de Hg, este elemento debe encontrarse en forma inorgánica previo a la detección, específicamente en forma de Hg^0 , por lo que es necesario oxidar las especies de mercurio orgánicas, ya sea por medio de digestión asistida por microondas post-columna [35], o por oxidación post-columna con reactivos como el persulfato de potasio a temperatura ambiente [36].

El proceso de oxidación permite la degradación de la materia orgánica que no se eliminó en la fase de extracción y el rompimiento de los enlaces metal-orgánico del HgCH_3^+ , para no interferir en la formación de vapor de Hg, ni en su detección.

1.1.4 Análisis de riesgo en zonas contaminadas con mercurio

El riesgo a la salud para los habitantes de zonas contaminadas con metales pesados se puede evaluar mediante los resultados de la concentración del metal en suelo o agua. Así, en el estudio de Zheng y colaboradores [37] evaluaron el riesgo con los resultados de determinación de Hg total en polvo urbano de la ciudad de Huainan, al este de China, aplicando las ecuaciones 1-3.

$$TDI = C \exp \frac{(R_{ing})(EF)(ED)}{(BW)(AT)} \times 10^{-6} \quad (\text{Ecuación 1})$$

Donde:

TDI= Dosis de ingesta diaria (en mg/kg-día)

C_{exp}= Concentración en el punto de exposición (mg/kg)

R_{ing}= Tasa de ingestión. En suelo: 100mg/día para adultos y 200 mg/día para niños.

En agua: 2.0 L para adultos y 1.25 L para niños [21, 38]

EF= Frecuencia de exposición (330 días por año)

ED= Duración de exposición (24 años en adultos y 6 años en niños)

BW= Peso corporal (70 kg en adultos y 20 kg en niños)

AT= Tiempo promedio (para no carcinogénicos es ED x 365 días/año)

$$HQ = \frac{D}{RfD} \quad (\text{Ecuación 2})$$

y

$$HI = \sum HQ_i \quad (\text{Ecuación 3})$$

Donde:

HQ= Coeficiente de riesgo

D= Dosis de ingesta diaria o TDI

RfD= Dosis de referencia.

HI= Índice de riesgo, el cual equivale a la sumatoria de todos los coeficientes de riesgo ($\sum HQ$), de todas las vías de ingestión ("i") como agua, suelo, etc.

Como resultado, Zheng y colaboradores [37] encontraron que las concentraciones de Hg total en polvo de la ciudad de Huainan, China fueron en algunos casos mayores (0.02-0.56 mg/kg), que el valor promedio de fondo en suelos de Huainan, China (0.16 ± 0.14 mg/kg). Una vez obtenidas las concentraciones de Hg total, calcularon el TDI y obtuvieron menores a 1 (desde 1.08×10^{-7} hasta 5.1×10^{-7} mg/kg) y en el HI encontraron valores desde 5.95×10^{-3} hasta 3.91×10^{-2} indicando que el riesgo no resulta significativo ya que fue menor a 1.

En el caso de la dosis máxima para evitar efectos nocivos sobre la salud, se considera la dosis máxima establecida por la Agencia Ambiental de Reino Unido [9] descrita en la Tabla 1.1.

Para calcular la dosis de ingestión máxima, la EPA establece una dosis máxima de la especie de Hg, multiplicando por 20 kg en el caso de los niños y por 70 kg para adultos. Por lo tanto, la dosis de referencia para mercurio inorgánico es de 0.04 mg para los niños y 0.14 mg para los adultos. En el caso del CH_3Hg^+ es de 4.6×10^{-3} mg para los niños y 0.0161 mg para los adultos.

Por otro lado, Kelepertzis [39] realizó un estudio similar al anterior en zonas rurales

de Grecia, donde evaluaron la posible influencia de la actividad antropogénica en el grado de contaminación por metales pesados en suelo agrícola y agua para consumo humano. Para evaluar el riesgo a la salud humana, utilizaron una ecuación similar a la descrita por Zheng y colaboradores [37] para polvo urbano, considerando los valores de frecuencia de exposición, duración de exposición, peso corporal, tiempo promedio e ingesta diaria de suelo y se compara con los valores de referencia establecidos por la EPA [9]. Los autores encontraron coeficientes de riesgo alto para niños (HQ desde 0.44 hasta 3.45) de la zona rural de Thiva por los metales Cd, Cr y Co.

1.1.5 Análisis crítico de la literatura

En el estado de San Luis Potosí se han descrito zonas con antecedentes de actividad minera que podrían representar una fuente de contaminación por Hg y fuente de riesgo para la salud humana. Así en el estudio realizado en Cedral, San Luis Potosí se evaluó la disponibilidad que presenta el Hg en suelos y jales mineros a través de estudios de fraccionamiento, en el cual se determinó que entre el 85 y 97% del mercurio total estaba asociado a sulfuros y el resto como formas solubles, no obstante, aunque la mayor parte del Hg no era soluble, se encontraron concentraciones altas de este metal en sangre de niños que habitaban la región (desde 4 hasta 76.8 µg/L), por lo que se consideró necesario llevar a cabo un estudio más completo que incluyera la especiación (Hg^{2+} y CH_3Hg^+) y el fraccionamiento secuencial (procedimiento estandarizado BCR) para evaluar el grado de

disponibilidad que puede presentar el Hg en zonas con actividad minera de la región de Villa Hidalgo, San Luis Potosí.

A la fecha no existe un procedimiento estandarizado en las Normas Oficiales Mexicanas para la extracción y determinación de las especies de Hg (Hg^{2+} y CH_3Hg^+) en muestras de suelo. Los procedimientos descritos en la literatura incluyen el empleo de diferentes agentes extractantes para la preparación de muestra y asistidos en algunos casos por microondas y posterior determinación por HPLC-VG-ICP-MS, HPLC-VG-AFS o GC-AFS.

Debido a que en los estudios llevados a cabo en zonas mineras de México solo se determinó Hg total y en un caso se llevó a cabo fraccionamiento de Hg en dos etapas, aunado a que no existen antecedentes de análisis de riesgo por exposición a Hg en la zona con actividad minera de Villa Hidalgo, es necesario llevar a cabo el análisis de riesgo por exposición a Hg, llevando a cabo tanto determinación de Hg total, el fraccionamiento secuencial con un procedimiento estandarizado y la especiación de Hg en suelos de esta zona de estudio. Una vez que se conozca la concentración de cada una de las fracciones y especies de este metal, será posible evaluar matemáticamente el riesgo para la población de esta comunidad. Para lograr estos objetivos, es necesario implementar metodologías analíticas con bajos límites de detección, que sean comparables o mejores a metodologías que describen el uso del ICP-MS, pero con equipos menos costosos y con menor costo operativo.

1.1.6 Alcance del proyecto

Establecer un método para la determinación de las especies de CH_3Hg^+ y Hg^{2+} en suelo, que permita evaluar el riesgo potencial por Hg a la salud humana y ecosistemas de la región minera de Villa Hidalgo, San Luis Potosí.

1.2 MARCO TEÓRICO

1.2.1 Mercurio en el ambiente y su toxicidad

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud [7], el Hg es un elemento que está presente de forma natural en el aire, agua y suelo. Existen varias formas de mercurio: inorgánico en la forma elemental o metálica (Hg^0) o en forma de sales (Hg^{2+}), y orgánico como el metilmercurio (CH_3Hg^+), entre otras.

La exposición al Hg, incluso a pequeñas cantidades, puede causar graves problemas de salud para el ser humano y es peligroso para el desarrollo intrauterino y en las primeras etapas de vida. El Hg puede ser tóxico para el sistema nervioso e inmunitario, el aparato digestivo, la piel y los pulmones, riñones y ojos. Para la OMS, el Hg es una de las diez sustancias que plantean especiales problemas de salud pública.

Dependiendo de factores, como el tipo de suelo y sus características fisicoquímicas, el clima predominante y el porcentaje de materia orgánica, el Hg puede moverse en el ambiente presentando interconversión de especies. Por ejemplo, el Hg

inorgánico se deposita eficientemente en el suelo y en ambientes acuáticos y es convertido a CH_3Hg^+ por bacterias anaeróbicas reductoras. Una vez que ha entrado a la cadena trófica, al ser metabolizado por las bacterias, el CH_3Hg^+ se bioacumula cuando estas bacterias son ingeridas por otros organismos, hasta llegar a niveles tróficos superiores [40]. Por otra parte, aunque el Hg puede llegar al suelo proveniente de fuentes naturales, como la actividad volcánica y la erosión de las rocas, la concentración de Hg en suelos en la corteza terrestre suele encontrarse en un rango entre 0.02 y 0.06 mg/kg [9], las actividades como la minería pueden incrementar su concentración en el medio ambiente. Existen otras actividades, como la combustión de carbón en centrales eléctricas, calefacciones y cocinas, de procesos industriales, de la incineración de residuos y de la extracción minera de Hg, Au y otros metales, que pueden incrementar los niveles de Hg. Los efectos del Hg sobre la salud, así como su gravedad, pueden variar de acuerdo a diversos factores [7] entre ellos:

- La forma de Hg de que se trate, por ejemplo, la especie orgánica metilmercurio es la más tóxica.
- La dosis a la que se exponga el individuo.
- La edad o el estadio de desarrollo de la persona expuesta (la etapa fetal es la más vulnerable).
- La duración de la exposición.
- La vía de exposición (inhalación, ingestión o contacto cutáneo).

Debido a la presencia de Hg en sus diferentes formas, se puede evaluar en función del fraccionamiento o especiación como ya se mencionó anteriormente.

1.2.2 Fraccionamiento y especiación química

De acuerdo con la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada [41], el término de especiación química en el área de química analítica se refiere a las actividades analíticas que se llevan a cabo para identificar y/o medir las cantidades de una o más especies químicas en una muestra. En este proyecto de tesis, se realizó el análisis de especiación de Hg para poder distinguir entre las especies Hg^{2+} y CH_3Hg^+ que pudieran estar presentes en suelo.

Para realizar un análisis de especiación de Hg en muestras de suelo, se emplean comúnmente técnicas híbridas que incluyen una técnica de separación cromatográfica como HPLC [32, 41, 42] o cromatografía de gases con derivatización previa de las especies de Hg [31, 43] acoplada a una técnica atómica de análisis.

El término fraccionamiento se refiere a un proceso de clasificación de un analito o grupo de analitos de cierta muestra de acuerdo a sus propiedades físicas (tamaño, solubilidad) o químicas (como unión a ciertos compuestos químicos o reactividad).

Un procedimiento de fraccionamiento ampliamente aceptado es el descrito por la Oficina de Referencia de la Comunidad Europea, denominado BCR [2, 44], que consiste en una extracción secuencial en donde las fracciones del metal de estudio extraen en función de su solubilidad obteniendo desde las más solubles hasta las menos solubles.

1.2.3 Métodos analíticos para determinación de mercurio

La cromatografía de líquidos de alta eficiencia (HPLC) es la técnica más versátil y más utilizada para la separación de compuestos orgánicos. La cromatografía de fase reversa con columna C18 es de uso frecuente para separar especies de Hg, la cual consiste en una fase estacionaria que es una columna de sílice con grupos funcionales de octadecilsilano (C18), la cual es no polar y tiene afinidad con compuestos no polares como el CH_3Hg^+ [28, 29]. Sin embargo, modificando la fase móvil con compuestos de azufre como 2-mercaptoetanol [45, 46] y L-cisteína [31], se forman complejos entre estos compuestos de azufre y las especies de mercurio [47], haciendo que aumente la afinidad entre el CH_3Hg^+ y la fase móvil, disminuyendo el tiempo de elución del CH_3Hg^+ . No obstante, al ser el Hg^{2+} más polar que el CH_3Hg^+ , eluye en menos tiempo que éste, logrando así la separación de ambas especies.

Comúnmente se utiliza una fase móvil polar, como el metanol al 1%, cisteína 5 mM y NaClO_4 al 0.15% [48]. En otros casos, se ha utilizado cisteína en concentraciones de 0.1 a 1 % p/v [1] para separar Hg^{2+} y CH_3Hg^+ . La cromatografía de líquidos es una técnica instrumental muy versátil, ya que en estos estudios de especiación se acopló a técnicas de espectroscopia atómica como AFS, como detector para llevar a cabo el análisis de especiación.

Debido a las propiedades fisicoquímicas del Hg, es frecuente que a las técnicas espectroscópicas de análisis se les acople un generador de vapor frío (VG) para analizarlo en la forma elemental. Uno de los acoplamientos que se utiliza para

especiación es el de HPLC-VG-AFS [41, 44]. Esta técnica consiste en utilizar NaBH_4 como agente reductor, estabilizado con NaOH aplicado en medio ácido, con el fin de reducir el Hg^{2+} de la muestra a Hg^0 y así ser introducido al AFS para ser cuantificado.

La AFS se basa en el fenómeno de fluorescencia, que es la emisión de luz cuando se somete una muestra a una fuente de luz visible o ultravioleta próximo del espectro a una longitud de onda específica de ese analito, esta propiedad puede aprovecharse para la determinación de compuestos orgánicos e inorgánicos, relacionando la intensidad de la fluorescencia con la concentración de analito [49]. En la Figura 1.1 se muestra un esquema del acoplamiento HPLC-VG-AFS.

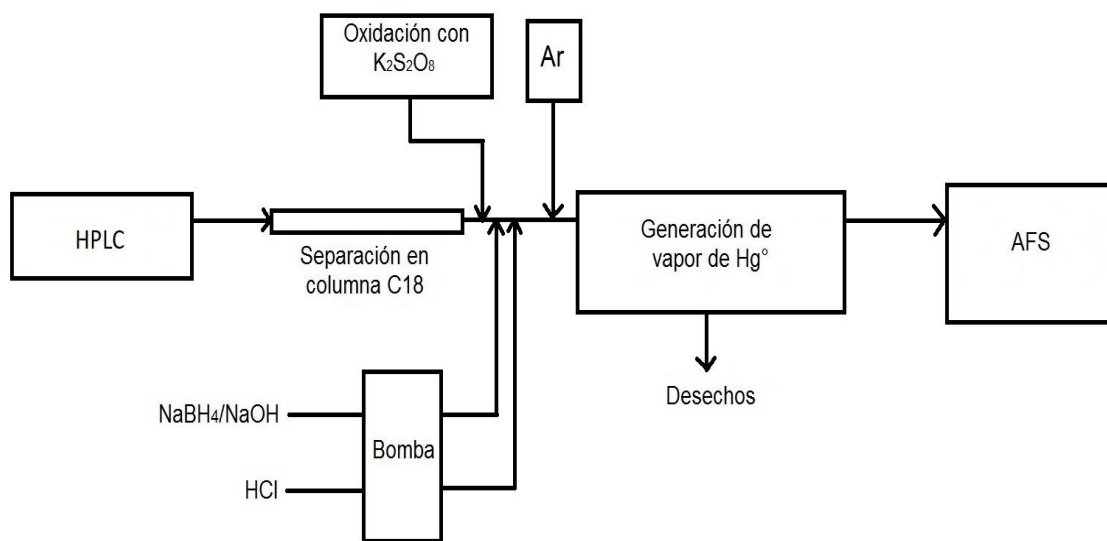


Figura 1.1 Esquema de los componentes del sistema acoplado HPLC-VG-AFS

1.2.4 Tipos de suelo en San Luis Potosí y sus características

Las características del suelo pueden influir en la distribución y especiación de metales. De acuerdo con lo publicado por el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) [46], los tipos de suelos predominantes en el estado de San Luis Potosí son leptosol, calcisol y phaeozem.

En el municipio de Villa Hidalgo, los tipos de suelo predominantes son: litosol de textura media (52.23%), litosol cálcico de textura media (41.69%), xerosol háplico de textura media (2.10%) y cálcico de textura media (1.57%) [50].

Por otro lado, la materia orgánica del suelo es muy importante, ya que cumple diversas funciones como [51]:

- Facilitar la absorción de mayor cantidad de radiación solar debido a su color oscuro, mejorando la transferencia térmica.
- Incrementar la retención de humedad de hasta 20 veces su peso, por lo cual evita la desecación del suelo, incrementando las poblaciones de organismos y solubilizando los nutrientes.
- Formar complejos con partículas de arcilla, lo que mejora la estabilidad estructural y evita pérdidas.
- Formar quelatos con elementos metálicos presentes en el suelo, lo cual mejora la disponibilidad para las plantas y reduce riesgos por contaminación de metales pesados.
- Amortiguar el pH, lo cual permite la estabilidad del suelo cuando se adicionan compuestos muy ácidos o alcalinos.

- Facilitar la capacidad de intercambio catiónico, lo que incrementa la fertilidad de los cultivos.
- Incrementar la mineralización, lo cual permite la liberación de elementos nutritivos al suelo; sin embargo, esto puede convertirse en pérdida si no hay adiciones permanentes de residuos frescos.

1.3 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1.3.1 Hipótesis

Los niveles de concentración de mercurio soluble y metilmercurio en suelo de la región minera de Villa Hidalgo, San Luis Potosí representan un riesgo para la salud humana.

1.3.2 Objetivo general

Determinar la concentración de Hg soluble y metilmercurio de las zonas de Villa Hidalgo, en San Luis Potosí y evaluar su riesgo potencial para la salud humana.

1.3.3 Objetivos específicos

1. Realizar el muestreo de suelos y agua de pozos en la zona de Villa Hidalgo, en San Luis Potosí.
2. Llevar a cabo la caracterización fisicoquímica de las muestras de suelo y agua.
3. Determinar Hg total por VG-AFS en agua y suelos (después de digestión ácida).
4. Realizar el fraccionamiento de Hg en suelo empleando el procedimiento secuencial BCR y determinación por VG-AFS.
5. Implementar un procedimiento de extracción por microondas para Hg²⁺ y

CH_3Hg^+ en suelos y determinación por HPLC-VG-AFS.

6. Verificar el método de determinación de Hg total en suelo y agua y CH_3Hg^+ en suelos mediante el análisis de un material de referencia certificado y aplicarlo en el análisis de muestras reales.
7. Evaluar el riesgo por Hg soluble y CH_3Hg^+ a la salud humana en la zona de Villa Hidalgo en San Luis Potosí.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Descripción general de la metodología del proyecto de tesis

La metodología desarrollada consistió en varias etapas, donde las muestras de agua y suelo se caracterizaron fisicoquímicamente. En las muestras de agua se determinaron los iones cloruro, sulfato y nitrato, oxígeno disuelto (OD), carbono orgánico total (COT), pH, conductividad, dureza total, alcalinidad y metales como Fe y Mn. Mientras que en las muestras de suelo, se determinaron los iones cloruro, sulfato y nitrato, pH, COT, conductividad, Fe total y soluble, Mn total y soluble, Hg soluble, además del contenido total de Cd, Cr, Cu, Pb, Ni y Zn. Tanto en muestras de agua, como suelo proveniente de la zona de Villa Hidalgo, San Luis Potosí, se determinó Hg total, implementando un método que involucraba digestión ácida de la muestra y cuantificación por Espectrofotometría de Fluorescencia Atómica con Generador de Vapor (VG-AFS). También se realizó fraccionamiento de Hg en suelo adaptando la metodología BCR reportada por Sahuquillo y colaboradores [19]. Por último, se seleccionó un agente extractante y se implementaron las condiciones cromatográficas para la especiación de Hg en muestras de suelo, por medio de HPLC-VG-AFS. La metodología se describe de manera general en la Figura 2.1.

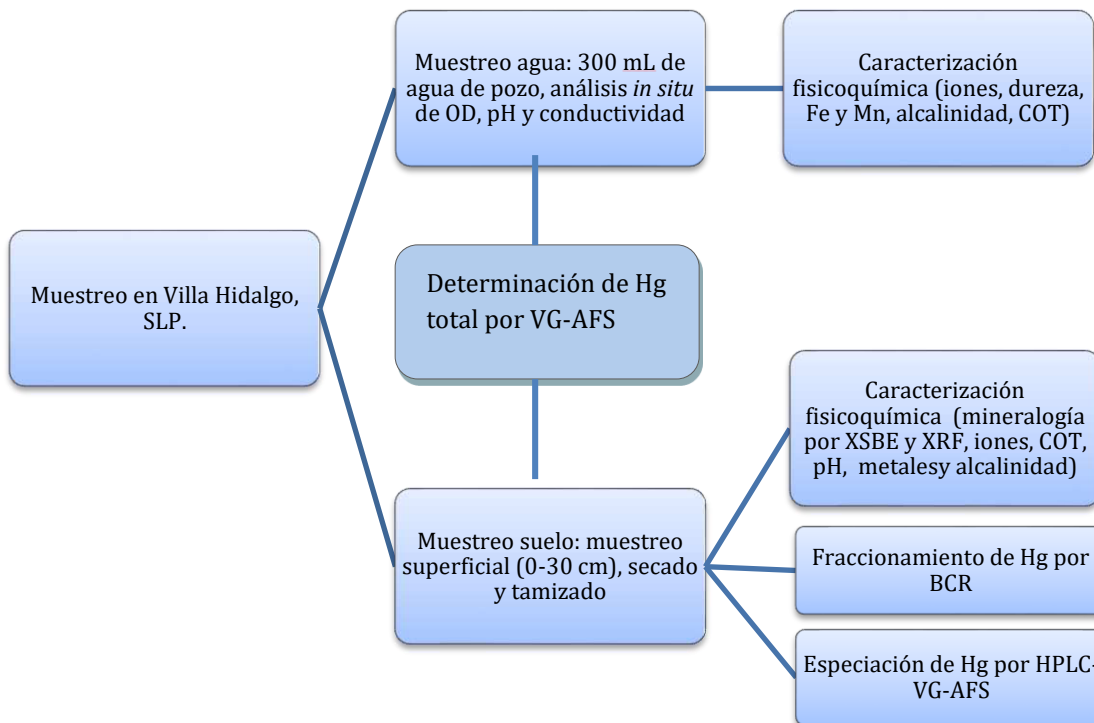


Figura 2.1 Metodología general llevada a cabo en este estudio

2.2 Materiales y reactivos

Lista de reactivos y materiales

- Agua ultrapura, conductividad: 18.2 MΩ cm, purificada con Sistema Milli Q.
- NaOH, marca MACRON, grado ACS.
- NaBH₄, marca Fluka, pureza grado AAS, pureza >99 %.
- HCl, marca Karal, concentrado al 36.5-38%, grado ACS.
- HNO₃, marca Fischer Scientific, concentrado al 67-70%, grado análisis de trazas.

- Tubos de polipropileno de 15 y 50 mL.
- Filtros de acetato de celulosa de 0.45µm, marca Phenex RC.
- Material de referencia, suelo contaminado con metales pesados, “ERA”, lote D069-540, No. de catálogo 540.
- Material de referencia certificado CRM 027-50G, lote #LRAA 7890 “*Trace metals- Sandy Loam*” 10.
- Eriocromo negro T/NaCl (0.5 g/100 g).
- Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) 0.01 M.
- Solución de naranja de metilo al 0.5 %.
- Estándar de Hg de 1000 mg/L para absorción atómica, marca AccuStandard.
- Cloruro de metilmercurio (CH₃HgCl) grado analítico, marca Sigma Aldrich.
- Estándar de cloruro de metilmercurio de 100 mg/L, disuelto en agua desionizada acidificada con HCl concentrado (20 µL de HCl en 100 mL de agua desionizada).
- Estándar de Cd de 1000 mg/L para absorción atómica, marca AccuStandard.
- Estándar de Cr de 1000 mg/L para absorción atómica, marca AccuStandard.
- Estándar de Cu de 1000 mg/L para absorción atómica, marca AccuStandard.
- Estándar de Ni de 1000 mg/L para absorción atómica, marca Fischer Scientific.
- Estándar de Pb de 1000 mg/L para absorción atómica, marca AccuStandard.
- Estándar de Zn de 1000 mg/L para absorción atómica, marca AccuStandard.
- Estándar de Fe de 1000 mg/L para absorción atómica, marca Fischer Scientific.

- Estándar de Mn de 1000 mg/L para absorción atómica, marca AccuStandard.
- Disolución de H₂SO₄ 0.1 N.
- Disolución acuosa del indicador de naranja de metilo al 0.05 % (p/v).
- Lámpara de cátodo hueco de Cd, marca Photron, modelo P808.
- Lámpara de cátodo hueco de Cr, marca Photron, modelo P812.
- Lámpara de cátodo hueco de Cu, marca Photron, modelo P814.
- Lámpara de cátodo hueco de Fe marca Photron, modelo P826.
- Lámpara de cátodo hueco de Hg, marcaGRINM, modelo HAF-2.
- Lámpara de cátodo hueco de Mn marca Photron, modelo P832.
- Lámpara de cátodo hueco de Ni, marca Photron, modelo P836.
- Lámpara de cátodo hueco de Pb, marca Photron, modelo P828.
- Lámpara de cátodo Hueco de Zn, marca Photron, modelo P867.

Lista de equipos

- Microondas, modelo Mars 6, marca CEM.
- Analizador de Fluorescencia de Rayos X, modelo ZSX Primus 5, marca Rigaku.
- Espectrofotómetro de Absorción Atómica, marca Varian, modelo SpectrAA 220FS.
- Bomba de HPLC, marca BFRI, modelo SY-8100
- Analizador de Carbono Orgánico Total por combustión catalítica, marca Shimadzu, modelo TOC-VCSH, con automuestreador, marca Shimadzu,

modelo ASI-V.

- Cromatógrafo de intercambio iónico, Thermo Scientific, modelo Dionex ICS-1100
- Microscopio Electrónico de Barrido modelo FEI-Quanta 600, marca Virginia Tech, con software MLA-FEI, versión 2008-2009.
- Espectrofotómetro de fluorescencia atómica acoplado a generador de vapor, marca Rayleigh, modelo AF-640A, marca Varian.
- Equipo medidor multiparámetro de campo, modelo OrionStar A329, marca Thermo Scientific
- Balanza analítica, marca Ohaus, modelo Pioneer.
- Baño termostático con agitación recíproca, marca Thermo Scientific, modelo Precision.

2.3 Muestreo

El muestreo se llevó a cabo en la zona de Villa Hidalgo, San Luis Potosí, el día 10 de septiembre de 2016, con una temperatura ambiente promedio de 35°C. El muestreo incluyó la recolección de muestras de suelo y agua de 7 sitios en base a la NMX-AA-132-SCFI-2006 [52] para suelo y la NOM-014-SSA1-1993 [53] para muestras de agua. Todos los sitios de muestreo se ubicaban adyacentes a pozos de agua que se utilizan para riego, labores domésticas y en la mayoría de los casos también para consumo humano. Los sitios de muestreo se ubican a los alrededores de la sierra “Los Librillos” cerca de las minas inactivas llamadas “Las Palmas” y “El

Pocito”, y de la zona mineralizada “La Taponá”, según la Carta Geológica Pozas de Santa Ana F14-A55 [3], los cuales pueden observarse en la Figura 2.2. Las muestras de suelo (aproximadamente 2 kg) fueron tomadas de suelo superficial (0-30 cm) con una pala de acero inoxidable y se almacenaron en bolsas de polietileno. En algunos puntos de muestreo se colectaron dos muestras, debido a que existían sitios en donde el suelo presentaba diferente coloración, colectando en total, diez muestras de suelo y siete de agua. A cada muestra se le asignó una clave, la descripción de los sitios junto con su localización geográfica se presentan en la Tabla 2.1. En la misma tabla también se incluye el número de habitantes de cada ejido [54].

Para la toma de las muestras de agua de pozo, se aplicó el método establecido por la NOM-230-SSA1-2002 [55] donde se colectaron 300 mL de muestra que fueron filtradas (filtros Phenex RC, de acetato de celulosa, 0.45 μm) y almacenadas a 4°C en frasco ámbar para determinación de parámetros fisicoquímicos. Aproximadamente 100 mL de cada muestra fueron acidificados (HNO_3 0.5 % v/v) para la determinación de metales. Se analizó el Hg total en un lapso menor a una semana para el cumplimiento de la NOM-127-SSA1-1994 [15].

Tabla 2.1 Coordenadas y claves de los sitios de muestreo

Sitio	Clave del Sitio	Coordenadas	No. de habitantes ^b
Llano del Carmen	LC	N 22° 51'29.3, O 100° 41' 13.3'', altura 1631 m	210
Charco-Cercado	CC	N 22° 53' 48.5, O 100°34' 11.3'', altura 1384 m	1,067
El Coyote	CY	N 22° 53' 48.5, O 100° 34' 18.1'', altura 1387 m	507
Chancaquero	CH	N 22° 54' 42.8, O 100° 39' 50.2'', altura 1560 m	252
La Tapona	TP	N 22° 47'25.6, O 100° 38' 32.9'', altura 1778 m	642
El Pocito	PC	N 22° 44.922', O 100° 36.851', altura 1718.8 m	231
El Parador ^a	PR	N 22° 53' 48.5, O 100° 34' 11'', altura 1384 m	-----

^aEl Parador forma parte de Charco-Cercado. No se dispone de información de la población de ese sitio en particular.

^bPueblos América (2017) [48, 54]. Según el INEGI (2009), el municipio posee 14,830 habitantes [46].



Figura 2.2 Mapa con la ubicación de los sitios de muestreo en Villa Hidalgo, SLP

2.4 Caracterización fisicoquímica de muestras de agua

Para la caracterización de las muestras de agua de pozo, se evaluaron diferentes parámetros fisicoquímicos y se determinó la concentración de algunos metales. Se determinaron *in situ* los parámetros de pH, oxígeno disuelto y conductividad, utilizando el equipo de campo multiparamétrico, modelo Orion Star A329, marca Thermo Scientific siguiendo las instrucciones del fabricante. En el laboratorio se realizó la determinación de diversos parámetros, como Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , carbono orgánico total (COT), alcalinidad total y los metales Fe y Mn.

Se determinó COT utilizando un analizador de COT, marca Shimadzu modelo TOC-V CHS. Para su análisis por esta técnica, las muestras de agua se filtraron previamente con filtros Phenex RC 0.45 μm y se diluyeron 1:10 con agua desionizada. Para la determinación de alcalinidad total en agua se llevó a cabo la titulación con disolución de NaOH 0.02 N, previamente valorada hasta el vire de amarillo a canela con el indicador naranja de metilo siguiendo el procedimiento establecido por la NMX-AA-036-SCFI-2001 [56].

Para la determinación de dureza del agua, se siguió el procedimiento establecido por la NMX-AA-072-SCFI-2001[57], donde la muestra en disolución amortiguadora de cloruro de amonio/ amoniaco/ EDTA, se tituló con una disolución de EDTA 0.01 M, hasta el vire de vino rojizo a azul del indicador Eriocromo negro T.

2.5 Determinación de Fe y Mn en las muestras de agua

Se determinaron Fe y Mn por espectroscopia de absorción atómica (AAS por sus siglas en inglés) en las muestras de agua (previamente acidificadas con 1 mL de HNO₃ concentrado por cada 100 mL) y centrifugadas a 5000 rpm/10 min), utilizando el espectrofotómetro de absorción atómica, modelo Spectra A 220FS, marca Varian y las lámparas de cátodo hueco para Mn marca Photron, modelo P832 y Fe marca Photron, modelo P826.

Las curvas de calibración de Fe y Mn se realizaron a partir de estándares comerciales de 1000 mg/L, preparando las disoluciones aforadas con agua desionizada acidificada con 1.5 mL de HNO₃ concentrado por cada 100 mL de muestra. El rango de calibración para la determinación de Fe y Mn de agua y suelos fueron de 1 a 5 mg/L para Fe y de 0.5 a 5 mg/L para Mn. Además, en las muestras de suelo se determinó Pb con un rango de calibración de 1 a 5 mg/L y Zn con un rango de 0.2 a 1.5 mg/L, preparando los estándares de la misma manera que para Fe y Mn.

2.6 Caracterización fisicoquímica de muestras de suelo

Las muestras de suelo agrícola fueron secadas en estufa a 35° C±1 durante 24 h, posteriormente se pulverizaron en mortero y se tamizaron hasta un tamaño de partícula menor a 250 µm (malla 60). De manera similar a las muestras de agua, en las muestras de suelo se determinaron parámetros fisicoquímicos como COT,

cloruros, pH, conductividad, composición elemental y mineral, además del contenido de metales presentes (Fe extraíble, Mn extraíble, Pb total, Cu total, Zn total, Cd total, Cr total y Ni total) mediante AAS. Los rangos de las curvas de calibración fueron de 0.5-5 mg/L para Cu, Cr y Ni, para Fe y Mn el rango fue de 0.1-2 mg/L, para Cd fue de 0.5-3 mg/L, para Pb fue de 1-5 mg/L y para el Zn, fue de 0.2-1.5 mg/L. Todos los estándares fueron preparados con agua Milli Q, acidificando con 1.5 mL de HNO₃ concentrado por cada 100 mL de solución.

2.6.1 Análisis de la composición elemental del suelo por Fluorescencia de Rayos X

Para determinar la composición elemental de las muestras de suelo, fue necesario compactar en forma de pastilla las muestras de suelo secas y tamizadas, colocando en contenedores de aluminio primeramente ácido bórico hasta llegar cerca del borde del contenedor de aluminio, encima de ella se agregaron aproximadamente 2 g de la muestra de suelo. Posteriormente, se colocaron los contenedores dentro de una prensa para formar las pastillas. Las muestras fueron analizadas por Fluorescencia de Rayos X (RXD), con tubo generador de Rayos X de Rh, a 4 kW, con escaneo continuo de 0.1 a 240°/min (ver Figura 2.3) para conocer su composición elemental.



Figura 2.3 Determinación de composición elemental por fluorescencia de rayos X

2.6.2 Análisis de composición mineral por microscopía electrónica con Electrones Retrodispersados y Rayos X

Con el fin de conocer la composición mineral de las muestras de suelo, se analizaron las muestras de suelo por microscopía electrónica con electrones retrodispersados y rayos X (XSBE), para lo cual se prepararon de la siguiente manera: se mezclaron 1.5 g de muestra con 0.15 g de grafito y se agregaron 3 g de resina epóxica y endurecedor, se mezclaron, se sonicaron y se vaciaron en moldes. Posteriormente se colocaron en una estufa a 40°C/1h y se dejaron enfriar y polimerizar durante 24 h. Una vez polimerizados, se les adhirió una etiqueta en la

base y encima de ella se vació más resina epóxica, las muestras se dejaron polimerizar durante 5 h, se pulieron y se recubrieron con carbón ultrapuro para posteriormente analizarlos por XSBE en el microscopio electrónico de barrido FEI-Quanta 600 y el programa de mineralogía automatizada MLA-FEI, versión 2008-2009 (Figura 2.4). El análisis se llevó a cabo con un voltaje de 20 kV, presión de 6.7 kPa y corriente de emisión de 200 μ A.

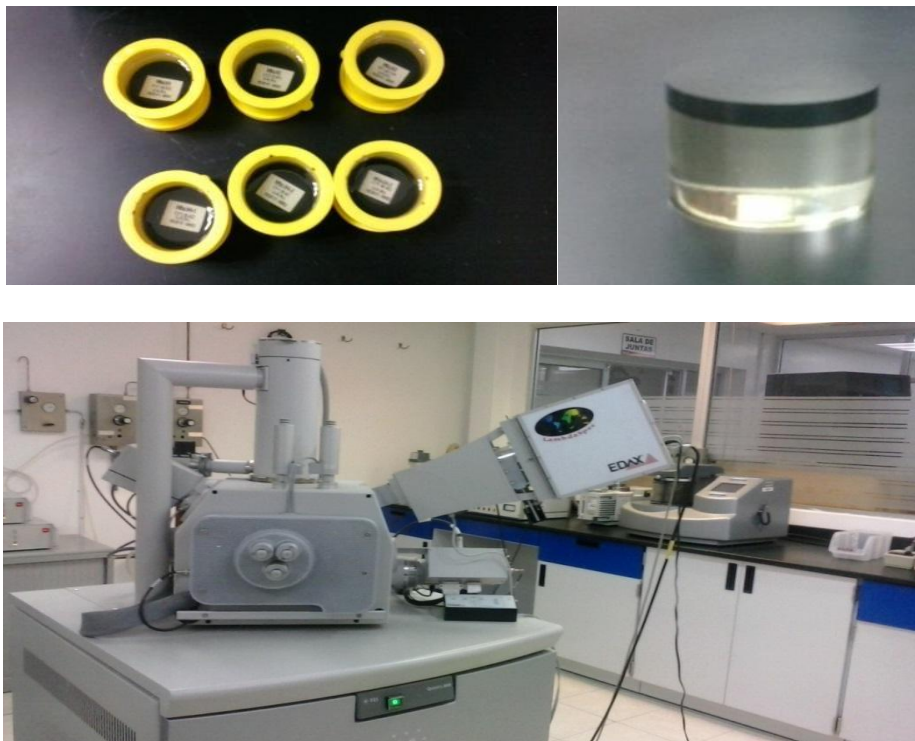


Figura 2.4 Preparación y análisis de composición mineral de muestras de suelos

2.6.3 Análisis de parámetros fisicoquímicos de muestras de suelo

Para la determinación de los parámetros fisicoquímicos, se prepararon los extractos acuosos de las muestras de la siguiente manera: se pesaron 10 g de suelo y se adicionaron 10 mL de agua desionizada, se agitó durante 24 h a 25°C y 200 rpm. Después se tomó el sobrenadante, se realizaron diluciones correspondientes de acuerdo a los rangos de las curvas de calibración de cada método analítico, se filtraron con filtros Phenex RC 0.45 µm y se guardaron en tubos de polipropileno de 50 mL, para ser usados en las caracterizaciones fisicoquímicas posteriores.

A partir de los extractos acuosos, se llevaron a cabo determinaciones de conductividad y pH en suelo utilizando un equipo medidor multiparámetro de campo, modelo Orion Star A329, marca Thermo Scientific. El contenido de COT en suelo se determinó en el analizador de COT a partir del extracto acuoso diluido 1:10. El contenido de cloruro en suelo se determinó por cromatografía de intercambio iónico a partir del sobrenadante que se obtuvo del extracto acuoso. Los análisis se realizaron por duplicado. Las condiciones operativas para el análisis por cromatografía de intercambio iónico se describen en la Tabla 2.2.

Tabla 2.2 Condiciones operativas del equipo de cromatografía de intercambio iónico

Parámetro	Condición
Cromatógrafo de Intercambio Iónico	Marca Thermo Scientific, modelo Dionex ICS-1100
Columna	Intercambio iónico para aniones, AS23, amina cuaternaria, 4 x 250 mm
Fase móvil	Na ₂ CO ₃ /NaHCO ₃ 4.5/0.8 mM
Tiempo de análisis	20 min
Temperatura de análisis	25°C
Flujo de columna	1.2 mL/min
Volumen de muestra	125 µL

Adicionalmente, se determinaron los metales Fe, Mn, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn por AAS en las muestras de suelo digeridas (de acuerdo a las condiciones establecidas en la sección 2.7), utilizando el espectrofotómetro de absorción atómica, modelo Spectra A 220FS, marca Varian. Para la determinación de Hg total en suelo, las muestras de suelo previamente digeridas (ver sección 2.7). Las condiciones de análisis se resumen en la Tabla 2.3.

Tabla 2.3 Condiciones instrumentales para determinación de Cd, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn en muestras de suelo

Metal	Longitud de onda (nm)	Flujo de aire (L/min)	Flujo de Acetileno (L/min)	Ancho de rendija (nm)	Corriente (mA)
Cd	228.8	14.0	1.5	0.5	4
Cr	357.9	13.6	2.9	0.2	6
Cu	324.8	14.0	1.5	0.5	4
Ni	232.0	14.0	1.5	0.2	5
Pb	217.0	14.0	1.5	1.0	4
Zn	213.9	13.5	2.0	1.0	5
Fe	248.3	14.0	1.5	0.2	5
Mn	279.5	14.0	1.5	0.2	5

2.7 Digestión ácida de las muestras de suelo

Para llevar a cabo la digestión ácida de suelo, se pesaron 0.2 g de suelo y se agregaron 4 mL de HNO₃ concentrado, 1 mL de HCl concentrado y 2 mL de H₂O₂ 30%. Se dejaron pre-digerir a temperatura ambiente durante 20 min y posteriormente se realizó la digestión por microondas, modelo Mars 6, marca CEM, con una rampa desde temperatura ambiente hasta 180 °C en 15 min y se mantuvo a 180°C durante 20 min. Posteriormente las muestras digeridas se aforaron a 10 mL con agua desionizada, se centrifugaron a 5000 rpm por 10 min y se filtró el sobrenadante con filtro Whatman No. 40. El sobrenadante se conservó en refrigeración hasta su análisis.

2.8 Determinación de mercurio total en suelo y agua

Para la determinación de Hg tanto en agua como en suelo por medio de VG-AFS, se emplearon las condiciones instrumentales que se describen en la Tabla 2.5. Las muestras de agua se analizaron directamente, sin digestión previa, para el análisis de lixiviados de suelos, las muestras se centrifugaron a 5000 rpm por 10 min y se analizó el sobrenadante.

Para la determinación de Hg total en suelo, primero fue necesario establecer las condiciones para la digestión, por lo que se evaluaron tres métodos distintos, para posteriormente seleccionar el mejor y posteriormente cuantificar el Hg por medio de VG-AFS. Se establecieron las condiciones de operación más adecuadas y se estimó

el límite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ), así como la repetibilidad del método propuesto como se describe en la siguiente sección.

2.8.1 Método de determinación de Hg mediante VG-AFS

Para realizar la cuantificación de Hg por la técnica de VG-AFS es necesario convertir el Hg en vapor elemental. Para ello se empleó NaBH_4 como agente reductor estabilizado en medio básico (NaOH) y solución de HCl como acarreador. Debido a que diversos estudios [31, 57], describen distintas condiciones para la generación de hidruros en la determinación de mercurio, se evaluó de manera univariante el efecto de la concentración de NaBH_4 , NaOH y HCl en una solución estándar de Hg 10 $\mu\text{g/L}$, manteniendo constante los otros parámetros de operación. En cuanto a la temperatura de atomización, se evaluaron las siguientes temperaturas: 25, 300, 400 y 450 $^\circ\text{C}$. Los resultados de implementación del método de determinación de Hg total por VG-AFS se presentan en el Anexo 1. Otras condiciones experimentales no evaluadas fueron tomadas de las recomendaciones del fabricante del equipo y los parámetros seleccionados se describen en la Tabla 2.4.

Tabla 2.4 Condiciones operativas del VG-AFS

Parámetro	Condición
Lámpara de Hg	253.7 nm
Corriente total	40 mA
Voltaje	270 V
Gas acarreador(Argón)	600 mL/min
Gas auxiliar(Argón)	300 mL/min
Temperatura atomización	300°C
Tiempo de lectura	21 s
Tiempo de demora	2 s
Conc. NaBH ₄ /NaOH	0.03 %/ 0.5 %
Conc. HCl	3 %

Comparado con otros trabajos donde se utilizó NaBH₄ en concentraciones de 0.75 % p/v [32] y 0.30 % p/v [59], la concentración del NaBH₄ utilizada en este trabajo fue 10 a 20 veces menor (0.03 % v/v), lo cual la hace una metodología de análisis más económica, comparada con previos estudios por AFS.

Bajo las condiciones de análisis descritas, se realizó la curva de calibración para Hg con una serie de estándares en un rango de 0.2 a 6 µg/L (Figura 2.5), preparados con el estándar comercial de Hg en agua desionizada, acidificada al con 1.5 mL de HCl concentrado por cada 100 mL.

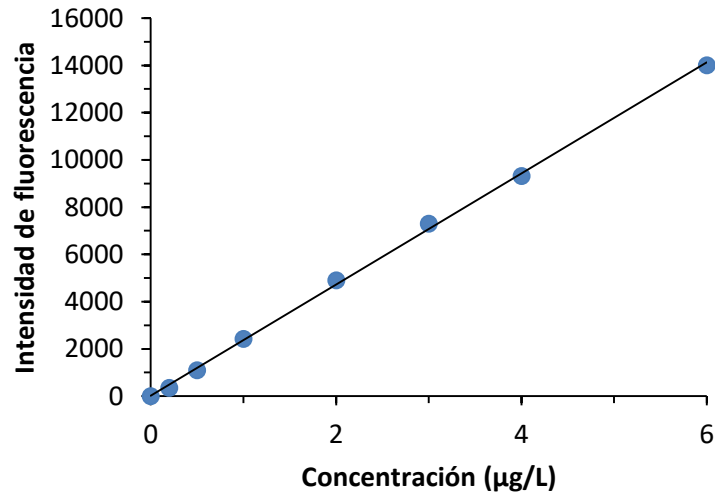


Figura 2.5 Curva de calibración para la determinación de Hg con VG-AFS

También se determinaron los límites de detección (LOD) y límites de cuantificación (LOQ) del método, los cuales se calcularon con las Ecuaciones 4 y 5.

$$LOD = \frac{(3.3S_{bco})}{b} \quad \text{(Ecuación 4)}$$

$$LOQ = \frac{(10S_{bco})}{b} \quad \text{(Ecuación 5)}$$

Donde:

S_{bco} = desviación estándar del blanco

b = pendiente de la recta de calibración

La concentración de Hg total en las muestras se calculó mediante la Ecuación 6:

$$X = \frac{y-a}{b} \quad (\text{Ecuación 6})$$

Donde:

“x” es la concentración del analito

“y” es la señal registrada por el equipo

“b” es la pendiente de la recta

“a” es el intercepto de la recta

En la tabla 2.5 se describen los parámetros analíticos para la determinación de Hg por VG-AFS, donde se muestra el rango de la curva de calibración, el coeficiente de correlación, los LOD y LOQ y la RSD (desviación estándar relativa) para dos niveles de concentración.

Tabla 2.5 Parámetros analíticos para la determinación de Hg por VG-AFS

Parámetro	Respuesta
Rango de la curva (µg/L)	0.2- 6.0
Ecuación de la recta	y=1716.9x+7.7
R ²	0.9989
LOD (µg/L)	0.02
LOQ (µg/L)	0.06
RSD (0.2µg/L, %)	2.4
RSD (6.0µg/L, %)	3.0

2.8.2 Método de digestión asistida por microondas para determinación de Hg total en suelo

La digestión ácida asistida por microondas ha sido descrita para la determinación de mercurio total en suelo por algunos autores [5, 27, 28], empleando diferentes reactivos (HNO_3 , HCl y H_2O_2), volúmenes, temperaturas y tiempos de digestión. En este estudio, la digestión asistida por microondas se evaluó utilizando 3 métodos: 1) HNO_3 : HCl (5mL: 3 mL) a 170°C / 20 min, 2) HNO_3 : HCl (4 mL: 3mL) a 180°C / 20 min y 3) HNO_3 : H_2O_2 : HCl (4mL: 2mL: 1mL) a 180°C / 20 min. De acuerdo a los resultados obtenidos (Anexo 2), se seleccionó el método 3, ya que presentó el mayor porcentaje de recuperación para Hg total en muestras de suelo (102%) y en el análisis del material certificado CRM027 (suelo franco-arenoso) no se presentó diferencia significativa entre el valor de referencia y el valor experimental para un límite de confianza del 95%.

2.9 Fraccionamiento de mercurio en muestras de suelo

Para el fraccionamiento secuencial de Hg en suelos se aplicó el procedimiento BCR descrito por Sahuquillo y colaboradores [19], pero se modificó en el último paso. Dichos autores utilizaron una digestión con agua regia, mientras que en el presente trabajo se aplicó el método descrito en la sección 2.7 para la digestión completa de la muestra de suelo. Este procedimiento permitió conocer la concentración de Hg asociado a diferentes fracciones mediante la comparación con Hg total en la

muestra y se reportó como porcentajes, tomando en cuenta la suma de todas las fracciones como el 100 %. El procedimiento experimental llevado a cabo en este trabajo para el fraccionamiento secuencial BCR se describe a continuación:

- I) Extracción de 1 g de sedimento con 15.2 mL de ácido acético 0.11 M a temperatura ambiente durante 16 h. El extracto se separó por centrifugación a 5000 rpm por 5 min. En este paso se obtuvo el Hg soluble o extraíble.
- II) Al residuo del paso I se le adicionaron 15.2 mL de $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ 0.5 M a pH 1.5 (ajustando con HNO_3 2 M). Se dejó en agitación durante 16 h. Después se centrifugó a 5000 rpm por 5 min y se lavó. En esta fase se recuperó el Hg unido a óxidos e hidróxidos de Al, Fe o Mn.
- III) El residuo del paso anterior fue digerido con 10 mL H_2O_2 al 30 %, durante 1 h a temperatura ambiente, seguida de digestión a 85 °C en baño de agua con 19 mL de $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$ 1.0 M a pH 2. Se mantuvo en agitación durante 16 h. Posteriormente se centrifugó a 5000 rpm y se lavó con agua desionizada.
- IV) El residuo final se digirió de acuerdo con procedimiento de digestión para Hg total en suelos descrito en la sección 2.7. En esta fase se extrajo el Hg unido a sedimentos, materia orgánica y en forma de sulfuros.

2.10 Especiación de Hg en suelo por HPLC-VG-AFS

Para la especiación de Hg en suelos, se establecieron las condiciones de trabajo para llevar a cabo la separación cromatográfica (HPLC) de las especies de Hg y posterior detección por VG-AFS. Una vez establecidas las condiciones cromatográficas, fue necesario seleccionar un procedimiento de extracción de las especies de Hg en muestras de suelo, validar el método y aplicarlo al análisis de especies de Hg en suelo de Villa Hidalgo. El procedimiento para análisis de especiación de Hg se describe a continuación.

2.10.1 Condiciones de análisis para la especiación de Hg por HPLC-VG-AFS

El análisis de especiación de mercurio en las muestras de suelo se llevó a cabo por HPLC-VG-AFS con oxidación post-columna. Las condiciones cromatográficas empleadas para la especiación fueron modificadas del estudio realizado por Carrasco y Vassileva [31] y se empleó como fase móvil metanol: acetato de amonio 0.05 M y L-cisteína 10 mM (4:96), utilizando un flujo de 1 mL/min. En este trabajo, para la oxidación post-columna se empleó $K_2S_2O_8$ al 3 % en HCl al 10 % y fue adaptado de las condiciones descritas por Li y colaboradores [36]. Se empleó el agente reductor $NaBH_4$ al 2 % en NaOH al 0.5 % en un medio ácido (HCl al 10 % v/v) para reducir el Hg^{2+} a Hg^0 . En la Tabla 2.6 se describen las condiciones operativas para especiación por HPLC-VG-AFS con oxidación post-columna. A diferencia del estudio de Li y colaboradores [36] que emplearon $K_2S_2O_8$ 1 % (p/v)

en HCl al 10 % (v/v) como agente oxidante post-columna en muestras de mariscos, en este estudio se utilizó $K_2S_2O_8$ 3 % (p/v) en HCl al 10 % v/v, ya que las muestras de suelo pueden requerir condiciones de oxidación más agresivas por la composición y cantidad de materia orgánica.

Tabla 2.6 Condiciones operativas para especiación de Hg por HPLC-VG-AFS con oxidación post-columna

Condiciones cromatográficas	
Columna	Spheri-5, ODS (250x4.6 mm,5 μ)
Fase móvil	metanol: acetato de amonio 0.05M y L-cisteína 10 mM (4:96)
Flujo	1 mL/min, volumen de inyección de 100 μ L
Condiciones VG-AFS	
Agente oxidante post-columna	$K_2S_2O_8$ al 3 % p/v en HCl al 10 %, 1 mL/ min
Gas acarreador	Argón grado HPLC, 600 mL/min
Agente reductor	$NaBH_4$ al 2 % en NaOH al 0.5 % ,2 mL/ min
Acarreador en bomba peristáltica	HCl al 10 %, 2 mL/ min

En la Figura 2.6 se muestra el cromatograma con adecuada resolución cromatográfica para los estándares de Hg^{2+} y CH_3Hg^+ y tiempos de retención para Hg^{2+} y CH_3Hg^+ de 250 y 350 s, respectivamente.

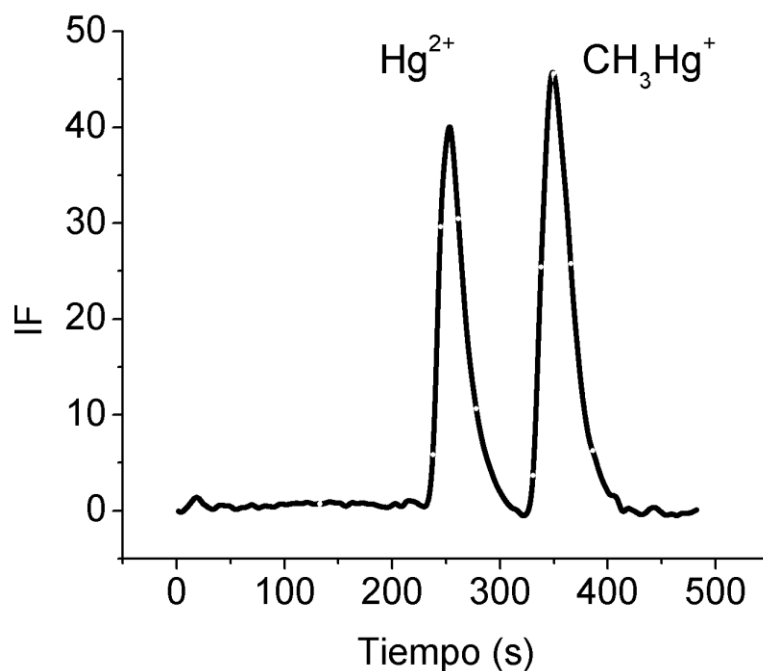


Figura 2.6 Cromatograma de estándares de Hg^{2+} y CH_3Hg^+ ($50 \mu\text{g/L}$ c/u) por HPLC-VG-AFS con oxidación post-columna

Los parámetros analíticos del método propuesto se describen en la Tabla 2.7. Se puede observar en base al valor de R^2 , que las curvas de calibración se ajustan bien a una línea recta, teniendo valores superiores a 0.9951 para las dos especies de mercurio, con límites de detección en el orden de partes por trillón ($2.03 \mu\text{g/kg}$ y $2.87 \mu\text{g/kg}$ para CH_3Hg^+ y Hg^{2+} , respectivamente). El LOD para CH_3Hg^+ fue comparable al reportado en otros trabajos [60] donde se utilizó HPLC-ICP-MS y alcanzaron un LOD de $5 \mu\text{g/kg}$ en suelos y sedimentos. También se obtuvo un LOD menor que el reportado por Jagtap y colaboradores [32] que analizaron CH_3Hg^+ en sedimentos, donde obtuvieron un LOD de $10 \mu\text{g/kg}$ determinado mediante HPLC-ICP-MS.

Tabla 2.7 Parámetros de calidad del método de especiación de mercurio en suelo

Parámetro	CH ₃ Hg ⁺	Hg ²⁺
Rango de la curva (µg/L)	5-50	5-50
Ecuación de la recta	y= 129.86x - 318.43	y = 95.775x + 251.37
R ² (µg/kg)	0.9951	0.9955
LOD (µg/kg)	2.03	2.87
LOQ (µg/kg)	6.16	8.70

2.10.2 Extracción de especies de Hg en suelo y validación del método de especiación.

Para la extracción de CH₃Hg⁺ en suelos se llevó a cabo previamente la evaluación de diferentes agentes de extracción de acuerdo a los métodos de extracción descritos en el Anexo 3. El extractante seleccionado fue el HNO₃ 4M y la extracción se realizó asistida por microondas a 100°C durante 10 min.

2.11 Evaluación del riesgo a la salud humana por metilmercurio y Hg soluble

La evaluación de riesgo en las zonas con actividad minera en el municipio de Villa Hidalgo se llevó a cabo mediante el análisis de riesgo aplicando las Ecuaciones 1-3 descritas en la sección 1.2.4. En el caso de la TDI de Hg en agua, se calculó en base a una ingesta de agua de 2 L para adultos [21]. En México, los adultos de 18 a 24 años ingieren en promedio 1.95 L de agua y los adultos de 25 a 35 años

ingieren en promedio 1.99 L de agua [21] y el valor para niños se estableció en 1.25 L, ya que, según Arredondo-García y colaboradores [38], la cantidad de agua que suelen ingerir los niños de 5 a 11 años en México es de 1.254 L. A partir de los resultados obtenidos de la ingesta diaria tolerable se compararon los valores de Hg^{2+} y CH_3Hg^+ con normas internacionales como la Agencia Ambiental del Reino Unido [9] para determinar si se exceden los límites establecidos (ver Tabla 1.1).

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Características de las muestras de agua y suelo de Villa Hidalgo

3.1.1 Caracterización fisicoquímica de muestras de agua y suelo

Una vez realizado el muestreo de suelo y agua de pozo en siete sitios cercanos a minas abandonadas en el municipio de Villa Hidalgo, San Luis Potosí, se procedió a realizar los análisis de caracterización de las muestras, tanto *in situ* para el caso del agua (pH, conductividad, oxígeno disuelto), como en el laboratorio (Fe extraíble, Mn extraíble, el contenido total de los siguientes metales: Pb, Cu, Zn, Cd, Cr y Ni, Cl⁻, COT, composición mineral por microscopía electrónica de barrido XSBE y composición elemental por XRF).

En la Tabla 3.1 se muestran los parámetros determinados en la caracterización fisicoquímica de las muestras de agua de pozo de la zona de estudio.

Tabla 3.1 Caracterización fisicoquímica de muestras de agua de pozo

Sitio	pH	Conducti- vidad (mS/cm)	Dureza (mg/L)	Alcalinidad (mg/L)	Cl ⁻ (mg/L)	SO ₄ ²⁻ (mg/L)	NO ₃ ⁻ (mg/L)	DO (%)	COT (mg/L)	Fe (mg/L) ^a	Mn (mg/L) ^b
LC	8.6	1.3	193 ± 5	205 ± 4	122.3	280	136.3	64.8	7.1	<LOQ	<LOQ
CC	7.5	1.1	491 ± 6	196 ± 2	44.8	388.2	105	53.9	9.8	<LOQ	<LOQ
CY	8.3	0.2	196 ± 2	160 ± 9	39	75.3	26.1	51.9	21.8	4.63±0.03	0.14±0.002
CH	8.1	0.2	187 ± 1	163 ± 7	2.83	20	22	21.9	18.2	5.41±0.05	0.14±0.002
TP	8.6	2.6	689 ± 2	133 ± 1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	80	14.8	<LOQ	<LOQ
PC	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0.41±0.01	0.08±0.007
PR	---	---	---	---	---	---	---	---	---	<LOQ	<LOQ

n=3 réplicas para Fe y Mn, n=2 para dureza y alcalinidad, n=1 para pH, iones y conductividad.

(-): No se realizó prueba. ^a LOQ para Fe: 0.19 mg/L. ^b LOQ para Mn: 0.008 mg/L.

El pH de las muestras fue moderadamente alcalino (pH de 7.5-8.6), debido a que son aguas de origen subterráneo y en su trayecto disuelven sales del suelo, las cuales se relacionan con los valores de conductividad registrada y pueden ser originados por la presencia de iones cloruro, potasio, calcio y magnesio [61], lo cual coincide con la presencia de iones cloruros que fueron detectados por cromatografía de intercambio iónico en las muestras de agua de Villa Hidalgo.

En el caso del sitio TP, el pH del agua excedió 8.5, el cual es el valor máximo que establece la NOM -127-SSA1-1994 para agua potable para consumo humano [15], además, ésta misma zona excedió el valor de dureza total de 500 mg/L establecido por esta misma norma, siendo por lo tanto agua muy dura, además de tener la conductividad mayor de las muestras analizadas.

En todas las muestras de agua donde se analizó nitrato, se excedió lo establecido por la NOM-127-SSA1-1994 (10 mg/L). La presencia de nitrato en agua puede deberse a factores como el uso excesivo de fertilizantes químicos o naturales, los cuales se lixivian, o debido a contaminación con materia orgánica y/o excrementos de animales [62].

En base al pH (7.5 a 8.6) de las muestras, la alcalinidad (133-205 mg/L) y tomando en cuenta la presencia de iones Cl^- y la presencia de grandes cantidades de calcio detectadas por microscopía electrónica para el caso de las muestras de suelo, se esperarían encontrar el Hg en combinación con cloruro y podría intercambiarse por el Ca^{2+} y otros cationes, ya que éstos suelen combinarse en el suelo con aniones como el Cl^- [61].

Respecto a la conductividad, parece no estar relacionada con los iones nitrato ni sulfato, ya que la muestra de “La Tapona” (TP) tuvo un valor de conductividad alta con respecto a las demás; sin embargo, no se detectaron de estos iones, por lo cual, dado el valor de conductividad encontrado podría estar relacionada principalmente con la presencia de otros iones inorgánicos no analizados.

En lo referente al oxígeno disuelto (OD) en agua, los valores mayores fueron en las muestras de “Llano del Carmen” (64.8 %) y “La Tapona” (80 %) y se pudieron deber a que el primero, el agua se bombeaba de un primer pozo hacia otro, por lo que se aireaba en el trayecto. En cuanto a la muestra de “La Tapona”, se trataba de un pozo que se llenaba con agua que se extraía por bombeo, lo cual explica que su contenido de OD fuera mayor que en las otras muestras.

La concentración de carbono orgánico total (de 7.1 a 21.8 %) presente en las muestras de agua puede explicarse con el hecho de que la mayoría provenían de pozos que no se encontraban adecuadamente tapados o protegidos de la tierra y hojas de árboles, incluso el agua que se iba extrayendo se almacenaba en aljibes o estanques abiertos y por ello el agua se exponía a contaminación con tierra y restos de plantas que abundan en el lugar.

Los metales Fe y Mn se detectaron en las muestras de agua en concentraciones desde 0.41 hasta 5.41 mg/L para Fe y desde 0.08 hasta 0.14 mg/L para Mn, lo cual podría deberse a que el agua suele presentar sustancias inorgánicas originarias del suelo de donde proviene, ya que a su paso se lleva consigo parte de los minerales y otras sustancias [63]. El Fe en CY, CH y PC excedió los 0.30 mg/L que establece

la norma NOM -127 –SSA1-1994 [15], también se detectó Mn, aunque en ningún sitio excedió el límite permisible de 0.15 mg/L. Así mismo, las muestras de suelo fueron caracterizadas fisicoquímicamente. Los valores de pH, cloruros, conductividad y contenidos de Fe, Mn, y COT están resumidos en la Tabla 3.2.

Tabla 3.2 Caracterización fisicoquímica de muestras de suelo

Lugar	pH	Cl ⁻ (mg/kg)	COT (mg/kg) ^a	Conductividad (μS/cm) ^a	Fe total (mg/kg) ^{b,c}	Fe Extraíble (mg/kg) ^{b,c}	Mn total (mg/kg) ^{b,d}	Mn extraíble (mg/kg) ^{b,d}
LC1	7.4± 0.01	58.4±0.4	60±18	953±1.0	8806±14	0.23±0.05	47±0.01	< LOD
LC2	7.9± 0.01	791.5±12.0	50±1	4.0±0.01	7976±76	0.13±0.03	60±1.05	0.06±0.01
CC1	7.7± 0.01	19.5±2.1	46±1	521±5.7	24685±74	0.24±0.04	82±0.49	< LOD
CC2	7.6± 0.01	108.5±50.1	45±1	2591±4.0	17755±75	0.50±0.21	100±0.63	0.15±0.01
CY1	7.6± 0.01	542.5±10.6	56±3	4.4±0.01	6653±51	0.21±0.01	20±0.19	0.08±0.01
CY2	7.8± 0.01	12.3±1.6	46±8	391±2.0	9216±48	0.21±0.05	70±0.33	0.16±0.02
CH1	8.0± 0.02	98.5±7.8	58±10	1002±4.0	10355±65	1.64±0.01	83±0.75	0.18±0.03
TP1	7.4± 0.01	849±11.3	56±1	8.8±0.01	12082±194	0.23±0.05	63±0.34	0.75±0.02
PC1	7.6± 0.01	838±41.0	65±15	6.2±0.01	11858± 21	0.37±0.01	61±0.13	0.14±0.01
PR1	7.5± 0.01	98.3±23.6	53±19	2472±4.0	14957± 559	0.17±0.03	89±0.45	0.15±0.01

^a n=2. ^b n=3. ^c LOD y LOQ Fe en extractos= 0.13 y 0.4 mg/kg. LOD y LOQ Fe en suelo: 0.8 y 2.3 mg/kg. ^dLOD y LOQ Mn suelo: 0.67 mg/kg y 2 mg/kg. LOD y LOQ Mn en extractos: 0.003 mg/L, y 0.008 mg/kg

Los suelos de la zona minera de Villa Hidalgo fueron alcalinos, con valores de pH entre 7.4 y 8.0, con bajo contenido de materia orgánica (COT entre 45-65 mg/kg). Los suelos analizados pueden clasificarse como xerosol debido a su textura arcillosa, baja concentración de materia orgánica (<3 % p/p) y bajo contenido de COT [56].

En lo referente a la caracterización del suelo, concuerda con otro estudio realizado en Matehuala, San Luis Potosí [64], donde las características del suelo como pH, conductividad y cloruros fueron muy similares a las encontradas en Villa Hidalgo, San Luis Potosí.

Las muestras de suelo presentaron concentraciones de Fe total desde 6653 hasta 24,685 mg/kg, los cuales, fueron relativamente bajos en comparación con los valores normales de fondo de la corteza terrestre, que se encuentran en un rango desde 20,000 mg/kg hasta 550,000 mg/kg [65]. Las concentraciones de Mn total se encontraron entre 20 mg/kg y 100 mg/kg, las cuales fueron bajas en comparación con los encontrados en otros estudios de zonas mineras como la Soterraña y Los Rueldos, en España, donde el Mn se hallaba en rangos desde 52 mg/kg hasta 1,089 mg/kg [5]. Cabe destacar que, de estas concentraciones de Fe y Mn, solo una fracción pequeña del Fe (<0.02 %) y Mn (<1.2 %) fue soluble en agua, lo cual sugiere que el Fe y Mn se encuentran en compuestos poco solubles en el suelo. Esto puede deberse a que en zonas áridas son comunes valores de pH alcalino (> 7.6) y los nutrimentos como el Fe, Mn y otros metales no se encuentren disponibles, ya que suelen solubilizarse a pH ácido [61].

Estos resultados coinciden con otros estudios, como el de Roca y colaboradores [66], donde encontraron que en muestras de suelos alcalinos los porcentajes de Fe y Mn disponibles o solubles fueron bajos, representando alrededor del 10 %. Además, en el mismo artículo mencionan que se encontró una correlación negativa entre el pH y el contenido de Fe y Mn disponible, es decir, a mayor pH, menor disponibilidad para estos elementos.

También se determinó el contenido total de los siguientes metales en el suelo de Villa Hidalgo: Cd, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn con la finalidad de caracterizar el suelo de esta región minera en cuanto al impacto por otros metales pesados y conocer más sobre las características fisicoquímicas de los suelos analizados. En la tabla 3.3 se puede observar que tanto Cd, Cr, Pb y Ni estuvieron en concentraciones menores al límite de cuantificación y no excedieron los límites establecidos por la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 [17], que son de 37,1600, 400 y 280 mg/kg para Cd, Ni, Pb y Cr (VI), respectivamente. Como ya se había mencionado, dentro de la caracterización se determinó también Cu en suelos, el cual no se detectó en ninguna de las muestras. En nuestro país no existe regulación sobre el nivel de Cu en suelos, pero existen normas en países como Canadá, donde establece un límite máximo permitido de 63 mg/kg [67].

Tabla 3.3 Resultados de la determinación de Cd, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn totales en suelo por Espectrofotometría de Absorción Atómica

Muestra	Cd ^a mg/kg	Cr ^b mg/kg	Cu ^c mg/kg	Ni ^d mg/kg	Pb ^e mg/kg	Zn ^f mg/kg
LC1	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	58±2	44±2
LC2	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	51.5±3	87±1
CC1	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	102± 3	72±3.6
CC2	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	115±5	81±1
CY1	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	44± 1	33±1
CY2	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	14±3	26±0.5
CH	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	98±4	66±1.5
TP	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	56±5	61± 6
PC	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	88±0.02	71±2
PR	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	111±5	79± 5

LOD (mg/kg): ^a 0.25, ^b =2.5, ^c =0.125, ^d =0.5, ^e =4.84 y ^f =1.17. Para todos los metales n=4 réplicas.

En cuanto a la concentración de Pb total (14-115 mg/kg), en todos los sitios fue menor al límite establecido por la norma NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 [17], que es de 400 mg/kg. En lo que respecta al Zn, no existe regulación en nuestro país en cuanto al límite máximo en suelo, por lo que se tomó como referencia el límite establecido por el Canadian Council of Ministers of the Environment [67], que establece 200 mg/kg como límite máximo en suelos de uso residencial, el cual no fue excedido por ninguna de las muestras (26-87 mg/kg).

3.1.2 Determinación de la composición elemental y mineral de las muestras de suelo

Con el fin de conocer la composición elemental de las muestras de suelo, se llevó a cabo el análisis elemental por Fluorescencia de Rayos X (XRF). Se encontró que

las muestras se componían principalmente de O (52.2-54.8 %), Si (17.3-25.6 %), Ca (4-18.5 %), Al (5-8 %), Fe (1.7-3.8 %), K (1.7-2.9 %), Mg (0.47-1.8 %), Na (0.3-1.8 %), Ti (0.13-0.36 %), S (0-0.2 %) y P (0.03-0.15 %), con algunas trazas de otros elementos, como se puede observar en la Figura 3.1.

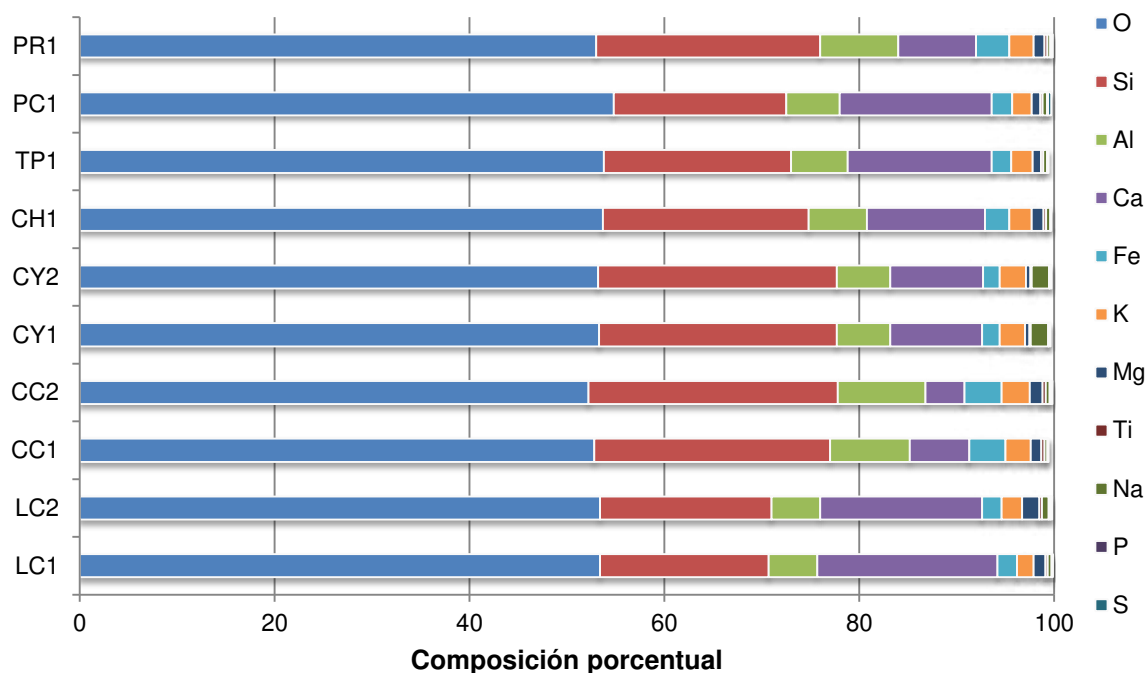


Figura 3.1 Composición elemental de las muestras de suelo

Para conocer los minerales de los cuales formaban parte estos elementos en el suelo, se llevó a cabo el análisis por microscopía electrónica por medio de electrones retrodispersados y rayos X, encontrando principalmente minerales como: ortoclasa (7.5-43.76 %), grosularita(5.65-41.69 %), CaO (3.55-24 %)labradorita (0-33.4 %), cuarzo (29.7-5.2 %), epidota (4-18.7 %), albita (0-8.4 %), dolomita (0-8 %), muscovita (0-4.6 %), biotita (0-1.7 %), augita (0-1.4 %) y diopsido (0-08 %), entre

otros, los cuales consistían principalmente de silicatos de Al, Fe, Ca, Mn, Mg y K.

La composición mineral de las muestras se puede observar en la Figura 3.2.

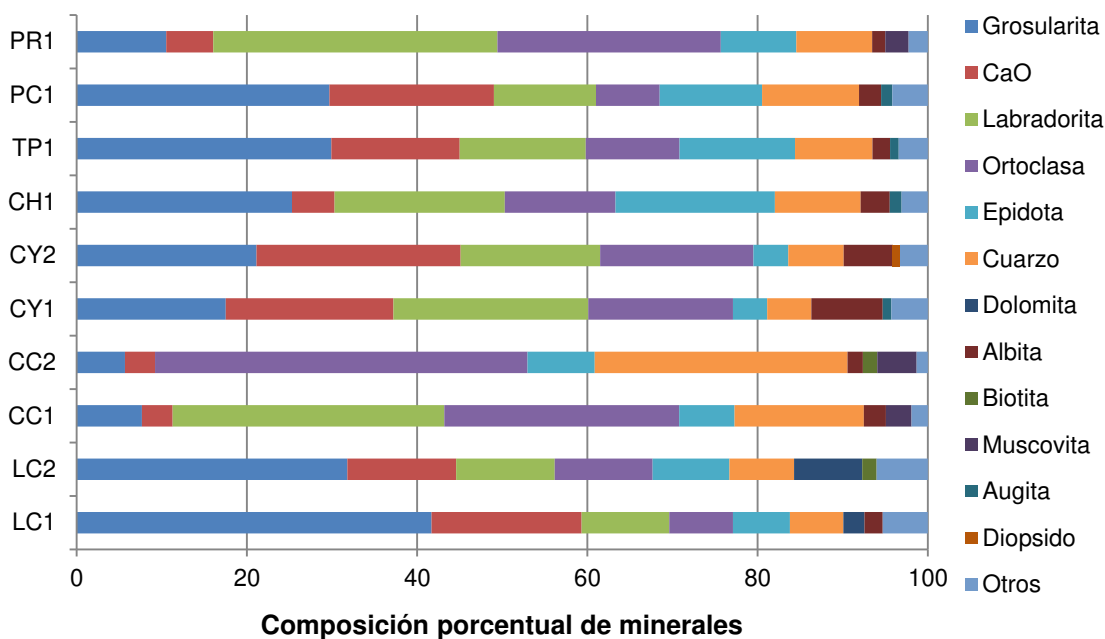


Figura 3.2 Composición porcentual de los minerales presentes en las muestras de suelo de Villa Hidalgo

3.2 Determinación de Hg total en agua, suelo y extractos acuosos

La concentración de Hg total en las muestras de agua (Tabla 3.4) fue entre 0.08 µg/L y 0.37 µg/L, sin exceder el límite de la NOM-NOM-127 para agua potable (1 µg/L). Sin embargo, estas concentraciones de Hg en agua potable pueden representar un riesgo para la salud humana ya que este metal pesado es bioacumulable y muy tóxico [7].

Tabla 3.4 Concentración de Hg total en muestras de agua de pozo

Lugar	Hg total ($\mu\text{g/L} \pm \text{SD}$) ^{a,b}
LC	0.24 \pm 0.010
CC	0.37 \pm 0.002
CY	0.11 \pm 0.040
CH	0.08 \pm 0.002
TP	0.22 \pm 0.010
PC	0.23 \pm 0.030
PR	0.21 \pm 0.030

^a n= 2. ^b LOD 0.02 $\mu\text{g/L}$ y LOQ 0.06 $\mu\text{g/L}$

Las concentraciones de mercurio total en suelo obtenido por el procedimiento de digestión ácida asistida por microondas y el porcentaje de mercurio soluble obtenido de la lixiviación con agua se muestran en la Tabla 3.5.

Tabla 3.5 Concentración de Hg total en suelo y extractos acuosos de muestras de suelo

Lugar	Hg total ^a ($\text{mg/kg} \pm \text{SD}$)	Hg soluble en agua ^b ($\mu\text{g/kg} \pm \text{SD}$)	Hg soluble (%)
LC1	0.73 \pm 0.09	0.37 \pm 0.01	0.051 %
LC2	2.67 \pm 0.19	0.36 \pm 0.01	0.013 %
CC1	0.58 \pm 0.04	0.29 \pm 0.01	0.050 %
CC2	0.34 \pm 0.01	0.36 \pm 0.01	0.106 %
CY1	0.42 \pm 0.01	0.30 \pm 0.01	0.071 %
CY2	0.73 \pm 0.02	0.31 \pm 0.01	0.042 %
CH1	0.69 \pm 0.02	0.34 \pm 0.01	0.050 %
TP1	41.76 \pm 1.84	0.77 \pm 0.05	0.002 %
PC1	6.52 \pm 0.56	0.39 \pm 0.01	0.006 %
PR1	0.68 \pm 0.01	0.46 \pm 0.01	0.070 %

^a Hg total en suelo y en extracto acuoso n=2. Hg total LOD= 0.185 $\mu\text{g/kg}$, LOQ= 0.56 $\mu\text{g/kg}$. ^b Hg en extractos el LOD=0.02 $\mu\text{g/kg}$ y LOQ=0.06 $\mu\text{g/kg}$

La concentración de Hg total en la muestra de suelo TP (41.76 ± 1.84 mg/kg) casi duplicó el límite permisible de 23 mg/kg que establece la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 [17] para suelo de uso agrícola, seguida de “PC1” y “LC 2”, los cuales, aunque no exceden la norma, también presentaron concentraciones de Hg total mayores a los valores de fondo de la corteza terrestre, que normalmente se encuentran entre 0.02 a 0.06 mg/kg [9], dando indicio de actividad antropogénica en la zona. La alcalinidad del suelo de la zona de Villa Hidalgo puede reducir la movilidad de Hg ya que el pH alcalino disminuye la solubilidad y disponibilidad de este metal [61], por lo que solo una pequeña fracción puede ser lixiviada (desde el 0.002 % a 0.071 % del Hg total) y llegar a los mantos acuíferos. En todos los sitios analizados, el porcentaje de Hg soluble fue <1 % del mercurio total en suelo.

Para evaluar la cantidad de mercurio disponible así como para conocer la asociación del mercurio con las distintas fracciones del suelo, se llevó a cabo el fraccionamiento de Hg por el procedimiento de BCR, el cual es un procedimiento estandarizado.

3.3 Fraccionamiento de Hg en muestras de suelo mediante procedimiento BCR

En las muestras de suelo se aplicó el procedimiento BCR utilizado por Sahuquillo [19]; sin embargo, se modificó en el último paso, aplicando el método de digestión para Hg total descrito en la sección 2.7 ($\text{HNO}_3:\text{HCl}:\text{H}_2\text{O}_2$), debido a que el método que se desarrolló y validó en esta tesis presentó buenos porcentajes de recuperación para el análisis de suelo (102 %) y al validarlo con el material

certificado CRM027 (suelo franco-arenoso) no mostró diferencias significativas entre el valor certificado y el valor obtenido en el análisis de Hg total (Anexo 2), por lo que se considera un método confiable para el tipo de matriz con la que se trabajó. El procedimiento consistió en cuatro etapas, en las cuales se puede asociar el mercurio a diferentes fracciones del suelo, obteniéndose en el primer paso el Hg más soluble, en el segundo el Hg de la fracción reducible, en el tercero el Hg unido a la materia orgánica (oxidable) y en el cuarto el Hg asociado a la fracción residual, necesitando para esta fracción condiciones de extracción más agresivas. Los resultados del fraccionamiento de Hg en suelos se describen en la Figura 3.3. A la suma de la fracción extraíble y reducible se le llamó fracción disponible, ya que estas fracciones son las más biodisponibles [23].

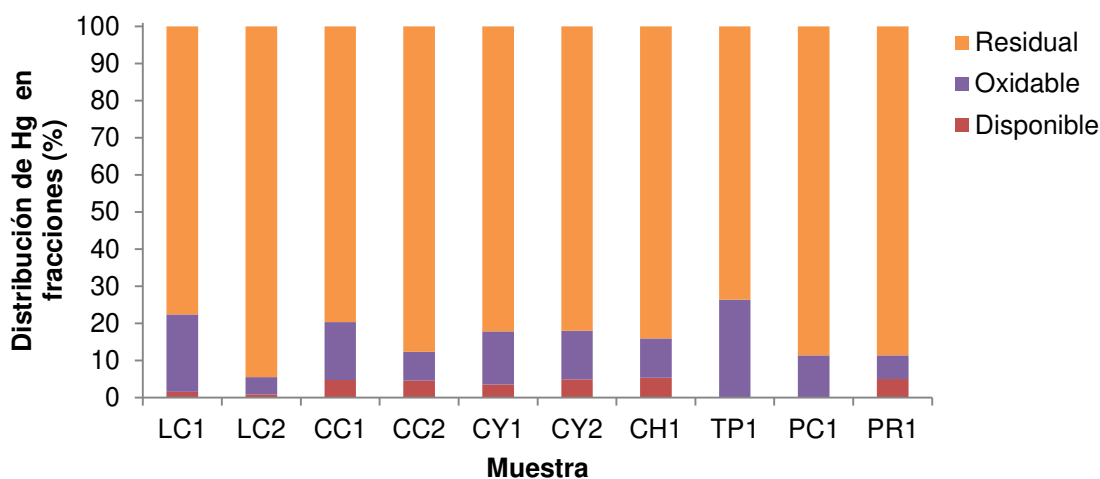


Figura 3.3 Fraccionamiento secuencial BCR de mercurio en muestras de suelo de Villa Hidalgo. La fracción disponible es la suma de las fracciones extraíble y reducible

En el fraccionamiento de Hg por el procedimiento secuencial BCR (Figura 3.3), se puede observar que el mayor porcentaje del Hg en los sitios de muestreo se encuentra en la fracción residual (77.6 al 94.5 %), seguido del Hg unido a la materia orgánica u oxidable (4.6-26.3 %) y por último, el disponible, que es la suma de la fracción extraíble y la fracción reducible (las primeras 2 fases del fraccionamiento), que corresponde a 0.1-5.3 % del Hg total.

Aunque el porcentaje de Hg para la fracción disponible fue bajo, aun se podría considerar que existe riesgo potencial para la población y el ecosistema de la zona de Villa Hidalgo, ya que se ha demostrado que este metal puede bioacumularse en plantas como la cebada (*Hordeum vulgare*) y en invertebrados, como la lombriz de tierra *Eisenia andrei* [23].

Adicionalmente, los porcentajes de mercurio residual en este estudio coinciden con los reportados en un estudio realizado en la zona minera del municipio de Cedral, en San Luis Potosí [28], en donde se reportó que el porcentaje de Hg en la fracción residual de suelo y jales mineros correspondía al 85-97 % del mercurio total.

3.4 Análisis de correlación entre distintos parámetros fisicoquímicos

La correlación de algunos parámetros del suelo sobre la movilidad de Hg fue determinada mediante el coeficiente de correlación de Pearson, utilizando el programa estadístico SPSS versión 21 ($\alpha = 0.05$, $n=10$).

Los resultados de correlaciones significativas se presentan en la Tabla 3.6.

Tabla 3.6 Correlaciones de Pearson significativas entre Hg total en suelo y parámetros fisicoquímicos del suelo

Parámetro	Parámetros correlacionados	Coefficiente (r)
Hg total	Mn lixiviable	0.954*
Hg lixiviable	Mn lixiviable	0.954**
	Hg total suelo	0.941**
Hg oxidable	Hg total suelo	0.669*
Hg disponible (extraíble + reducible)	Ca en suelo	-0.792**
Hg ²⁺ suelo	Hg disponible	-0.755*

*Correlación significativa para $\alpha=0.05$, ** Correlación significativa para $\alpha=0.01$.
n=10

A partir del análisis de correlación se encontró que el Hg en suelo estaba asociado al Mn, como ha sido previamente descrito en otros estudios [68]. En el caso de Villa Hidalgo, SLP, la correlación puede explicarse por la composición mineral del suelo, conformada principalmente por silicatos de Mn, Fe, Ca, Al y K, por lo que el Hg se encontraba asociado a estos compuestos, por lo que el Hg podía lixivarse junto con estos compuestos. También se puede observar que las concentraciones de Hg oxidable y Hg lixiviable son directamente proporcionales a la concentración de Hg total en suelo.

Asimismo, los compuestos de calcio, como el CaO en suelo, que representan entre 3.5 y 24 % de la composición total en suelo pueden incrementar el pH en el agua y suelo y reducir la disponibilidad de Hg. Sin embargo, estos parámetros no fueron significativos.

3.5 Especiación de Hg en muestras de suelo

3.5.1 Condiciones de extracción de las especies de Hg en suelo

Para llevar a cabo el estudio de especiación en las muestras de suelo, se implementó el método de extracción de especies de Hg evaluando tres procedimientos comúnmente descritos en la literatura, como se puede observar en la el Anexo 3. El método seleccionado fue el EPA 3200, el cual es una metodología validada por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA) para extracción de especies de mercurio en muestras de sedimentos [35]. Con este procedimiento se utilizó 1 g de muestra de suelo adicionando HNO_3 4 M y la extracción fue asistida por microondas con una rampa de temperatura ambiente a 100°C por 15 min y mantenido durante 10 min.

3.5.2 Especiación de mercurio en muestras de suelo

Una vez validado el método de especiación de mercurio en suelos (sección 2.10.3), se aplicó el procedimiento de extracción asistida por microondas con HNO_3 4 M (Método EPA 3200, ver sección anterior). En los extractos se determinó mercurio total VG-AFS y se realizó el análisis de especiación por HPLC-VG-AFS. En la Tabla 3.7 se muestran los resultados de la especiación de mercurio en suelos, así como los porcentajes que representan con respecto al Hg Total obtenido por digestión.

Tabla 3.7 Resultados de especiación de las muestras de suelo y porcentaje que representan respecto al Hg total por digestión

Muestra	Hg total por digestión (µg/kg)	Hg total extracto (µg/kg) ^a	Hg ²⁺ (µg/kg) ^b	CH ₃ Hg ⁺ (µg/kg) ^c	%Hg tot extracto	%Hg ²⁺
LC1	730±90	269±26	269±50	< LOD	37	37
LC2	2670± 190	945±63	826±5	< LOD	36	31
CC1	580±40	148±36	144±14	< LOD	26	25
CC2	340±10	303±4	305±3	< LOD	89	72
CY1	420± 10	114±31	114±5	< LOD	27	27
CY2	730±20	167±5	142±14	< LOD	23	20
CH1	690±20	93±9	98±2	< LOD	14	14
TP1	41760±1840	623±24	629±8	< LOD	1.5	1.5
PC1	6520±560	1970±179	1841±73	< LOD	30	28
PR1	680±10	144±39	144±5	< LOD	21	21

^a Hg total: LOD= 0.02 µg/kg y LOQ=0.06 µg/kg.

^b Hg²⁺: LOD= 3 µg/kg y LOQ= 9 µg/kg.

^c CH₃Hg⁺: LOD= 2.06 µg/kg y LOQ= 6.16 µg/kg.

Como puede observarse, el mercurio extraído con HNO₃ 4 M fue en promedio un 27.2 % del mercurio total, detectándose en el extracto únicamente Hg²⁺, en concentraciones desde 114±5 hasta 1841 µg/kg, que representan porcentajes desde 1.5 % hasta 72 % del mercurio total extraído. El bajo contenido de materia orgánica del suelo (< 3 %) pudo ser la razón de no detectar metilmercurio en ninguna muestra analizada dado que la metilación del mercurio es llevada a cabo por microorganismos como bacterias anaeróbicas reductoras del sulfato [36] además de que el mercurio puede encontrarse en formas químicas poco disponibles para

los microorganismos (como sulfuros o asociado a silicatos), muy poca cantidad de ese mercurio se convertirá en mercurio orgánico [23].

Es probable que la ubicación del sitio de muestreo TP1 (“La Tapona”) se encuentre relacionada con la mayor concentración de Hg Total, ya que se encuentra muy cerca de la mina inactiva de Hg y Sb “Las Palmas” (ver figura 2.2), por lo que los métodos poco eficientes del procesamiento de los metales debieron haber dejado residuos mineros (“jales”) depositados en el suelo cercano a la mina. Esto, aunado a la aridez del suelo y la baja concentración de materia orgánica podrían contribuir para que el Hg inorgánico no se convierta en Hg orgánico y se conserve en el suelo unido a la fracción residual.

3.6 Evaluación de riesgo por ingestión de Hg en niños y adultos

Al evaluar el riesgo por exposición a Hg^{2+} , aunque el sitio PC1 (“El Pocito”) presentó una concentración muy alta de Hg^{2+} inorgánico ($1841 \pm 73 \mu\text{g}/\text{kg}$), el cual excede a los valores de Hg encontrados en zonas no contaminadas como “La Soterraña” y “Los Ruedos”, en Asturias, España, que se hallaban en un rango entre 10 a 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ [5], en las Tablas 3.8 y 3.9, se puede observar que la ingesta total diaria (TDI) es mucho menor al límite de 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corporal que establece la Agencia Ambiental del Reino Unido [9], por lo que no se presentaría riesgo de daños evidentes a la salud de tipo no carcinogénico a corto plazo.

A partir de estos resultados se pueden observar que, aunque los valores de ingestión diaria son bajos, pueden existir otras fuentes de contaminación por Hg y

acumularse de forma crónica, especialmente el Hg lixiviable y el disponible (suma de la fracción soluble o “extraíble” y la intercambiable), ya que se ha demostrado que son los que más se acumulan en tejidos vivos [23].

El metilmercurio es soluble en lípidos y en el ser humano se absorbe rápidamente por el tracto gastrointestinal y llega pronto al cerebro, donde se acumula y se convierte lentamente en Hg inorgánico [8]. La población más susceptible son los niños pequeños y bebés, ya que son más sensibles a los efectos neurotóxicos del Hg, debido a que su sistema nervioso aún está en desarrollo. Asimismo, en el caso de las mujeres embarazadas, la etapa fetal es la más sensible de todas a los efectos neurotóxicos causados por el Hg, pudiendo causar posteriormente retraso mental y problemas de aprendizaje, entre otros problemas [7].

Tabla 3.8 Ingesta Total Diaria (TDI) de Hg en agua y suelo en niños y en cada fase del fraccionamiento por BCR

Sitio	TDI Hg Agua (mg/kg-día)	TDI Hg Total Suelo (mg/kg-día)	TDI Hg ²⁺ suelo (mg/kg-día)	TDI Hg lixiviable Suelo (mg/kg-día)	TDI Hg Disp. Suelo (mg/kg-día)	TDI Hg Oxidable Suelo (mg/kg-día)	TDI Hg Residual Suelo (mg/kg-día)
LC1	8.14E-11	3.96E-05	1.46E-05	2.01E-08	5.42E-07	7.63E-06	2.83E-05
LC2	8.14E-11	1.45E-04	4.48E-05	1.95E-08	5.42E-07	3.15E-06	6.48E-05
CC1	1.25E-10	3.15E-05	7.81E-06	1.57E-08	6.51E-07	2.14E-06	1.09E-05
CC2	1.25E-10	1.84E-05	1.65E-05	1.74E-08	3.30E-05	9.49E-07	1.06E-05
CY1	3.73E-11	2.28E-05	6.18E-06	1.63E-08	5.42E-07	2.27E-06	1.30E-05
CY2	3.73E-11	3.96E-05	7.70E-06	1.68E-08	7.05E-07	1.90E-06	1.19E-05
CH1	2.71E-10	3.74E-05	5.48E-06	1.84E-08	6.78E-07	1.38E-06	1.09E-05
TP1	7.46E-11	2.27E-03	3.63E-05	4.18E-08	7.05E-07	3.01E-04	8.45E-04
PC1	7.80E-11	3.54E-04	9.99E-05	2.12E-08	8.14E-07	1.00E-04	7.86E-04
PR1	7.12E-11	3.69E-05	7.81E-06	2.50E-08	8.14E-07	1.01E-06	1.42E-05

Tabla 3.9 Ingesta Total Diaria (TDI) de Hg para adultos en cada fase del fraccionamiento por BCR, en análisis de Hg en agua y suelo

SITIO	TDI Hg Agua (mg/kg-día)	TDI Hg Total suelo (mg/kg-día)	TDI Hg ²⁺ suelo (mg/kg-día)	TDI Hg Extractos suelo (mg/kg-día)	TDI Hg Disponible suelo (mg/kg-día)	TDI Hg Oxidable suelo (mg/kg-día)	TDI Hg Residual suelo (mg/kg-día)
LC1	1.49E-10	2.26E-05	8.34E-06	1.15E-08	3.10E-07	4.36E-06	1.62E-05
LC2	1.49E-10	8.28E-05	2.56E-05	1.12E-08	3.41E-07	1.80E-06	3.70E-05
CC1	2.29E-10	1.80E-05	4.46E-06	8.99E-09	3.72E-07	1.22E-06	6.22E-06
CC2	2.29E-10	1.05E-05	9.45E-06	9.92E-09	3.10E-07	5.42E-07	6.08E-06
CY1	6.82E-11	1.30E-05	3.53E-06	9.30E-09	3.10E-07	1.30E-06	7.45E-06
CY2	6.82E-11	2.26E-05	4.40E-06	9.61E-09	4.03E-07	1.08E-06	6.78E-06
CH1	4.96E-10	2.14E-05	3.13E-06	1.05E-08	3.87E-07	7.87E-07	6.21E-06
TP1	1.36E-10	1.29E-03	2.07E-05	2.39E-08	4.03E-07	1.72E-04	4.83E-04
PC1	1.43E-10	2.02E-04	5.71E-05	1.21E-08	4.65E-07	5.73E-05	4.49E-04
PR1	1.30E-10	2.11E-05	4.46E-06	1.43E-08	4.65E-07	5.80E-07	8.13E-06

Una vez evaluada la Ingesta Total Diaria (TDI), fue posible calcular los coeficientes de riesgo (HQ), los cuales se pueden observar en las Tablas 3.10 y 3.11. Estos valores se calcularon en base a la dosis máxima de referencia que es la cantidad máxima del contaminante que se puede ingerir sin causar daños perceptibles a la salud. La TDI en agua se calculó en base a un consumo diario de 1.25 L de agua para niños y 2 L para adultos [21, 60]. Una vez que se calculó HQ, se puede calcular el índice de Riesgo (HI), que es la suma de los riesgos de todas las fuentes de ingestión evaluadas (agua, suelo, etc.) [37], como se describe en la sección 1.2.4.

Debido a que las dosis de referencia proporcionadas por la Agencia Ambiental del Reino Unido [9] son concentraciones máximas por kg de peso corporal, la dosis de referencia se calculó multiplicando los 2 µg/kg que establece la Agencia por la cantidad de kg de peso corporal (en niños 20 kg y en adultos 70 kg). Luego se dividió la concentración de Hg encontrada en la muestra entre la dosis de referencia

previamente calculada. Un valor de HQ y HI alto es aquel igual o mayor a 1 y representa un riesgo alto para la salud por daños a la salud de tipo no carcinogénicos [37].

Cabe destacar que el HI tanto para niños, como para adultos, se calculó a partir de los HQ de Hg total en agua y Hg^{2+} en suelo, ya que todo el Hg contenido en el agua es ingerido al beberla. Se decidió tomar en cuenta el Hg^{2+} del suelo que se cuantificó en la especiación, ya que fue la única especie detectada y que después del Hg residual, es la especie más abundante, representando desde el 1.5 %, hasta el 71.5 % del Hg total.

Debido a los bajos valores obtenidos de las demás formas químicas del Hg, se considera que no tendrán un impacto suficiente sobre el valor de HI, además de que, algunas especies forman parte de otras fracciones. Por ejemplo, el Hg extraíble también forma parte del Hg obtenido en la especiación (donde se utiliza HNO_3 4M, que extrae fácilmente el Hg más soluble), por lo que, al sumar los HQ de todas las fracciones y especies, se podría erróneamente sobreestimar el riesgo, ya que se sumaría dos veces alguna especie. De acuerdo con la estimación de HQ y HI tanto para niños como para adultos (Tabla 3.10 y 3.11), los cuales son menores a 1, se descarta el riesgo por exposición a Hg para los habitantes de Villa Hidalgo. Sin embargo, no se pueden descartar intoxicaciones a largo plazo, ya que, al ser un metal bioacumulable, podría incrementarse su concentración tanto en tejidos animales como los cultivos, principalmente la fracción disponible (la suma de la fracción extraíble y la reducible) [23], siendo los bebés y los niños los más vulnerables a sus efectos, ya que se encuentran en desarrollo.

Tabla 3.10 Coeficientes de riesgo (HQ) e índices de riesgo (HI) por exposición a Hg en niños en base a las fracciones obtenidas por BCR en suelo y Hg total en agua

Sitio	HQ Hg Total	HQ Hg ²⁺ suelo	HQ Hg Extractos	HQ Hg Disponible	HQ Hg Oxidable	HQ Hg Residual	HQ Hg Agua	HI Hg ^a
LC1	9.90E-04	3.65E-04	5.02E-07	1.36E-05	1.91E-04	7.08E-04	2.03E-09	3.60E-04
LC2	3.62E-03	1.12E-03	4.88E-07	1.36E-05	7.87E-05	1.62E-03	2.03E-09	1.12E-03
CC1	7.87E-04	1.95E-04	3.93E-07	1.63E-05	5.36E-05	2.72E-04	3.14E-09	2.00E-04
CC2	4.61E-04	4.14E-04	4.34E-07	8.25E-04	2.37E-05	2.66E-04	3.14E-09	4.10E-04
CY1	5.70E-04	1.55E-04	4.07E-07	1.36E-05	5.68E-05	3.26E-04	9.32E-10	1.50E-04
CY2	9.90E-04	1.93E-04	4.20E-07	1.76E-05	4.75E-05	2.96E-04	9.32E-10	1.90E-04
CH1	9.36E-04	1.37E-04	4.61E-07	1.70E-05	3.44E-05	2.72E-04	6.78E-09	1.40E-04
TP1	5.66E-02	9.07E-04	1.04E-06	1.76E-05	7.53E-03	2.11E-02	1.86E-09	9.10E-04
PC1	8.84E-03	2.50E-03	5.29E-07	2.03E-05	2.51E-03	1.97E-02	1.95E-09	2.50E-03
PR1	9.22E-04	1.95E-04	6.24E-07	2.03E-05	2.54E-05	3.56E-04	1.78E-09	2.00E-04

^aEl valor de HI se calculó sumando HQ de ingestión de Hg en agua y HQ de Hg²⁺ en suelo

Tabla 3.11 Coeficientes de riesgo (HQ) e índices de riesgo (HI) por exposición a Hg en adultos en base a las fracciones obtenidas por Hg en agua y BCR en suelo

Sitio	HQ Hg Total suelo	HQ Hg ²⁺ suelo	HQ Hg Extractos suelo	HQ Hg Disponible suelo	HQ Hg Oxidable suelo	HQ Hg Residual suelo	HQ Hg Agua	HI Hg ^a
LC1	1.62E-04	5.96E-05	8.19E-08	2.21E-06	3.12E-05	5.96E-05	1.06E-09	3.10E-04
LC2	5.91E-04	1.83E-04	7.97E-08	2.44E-06	1.28E-05	1.83E-04	1.06E-09	9.70E-04
CC1	1.28E-04	3.19E-05	6.42E-08	2.66E-06	8.75E-06	3.19E-05	1.64E-09	2.00E-04
CC2	7.53E-05	6.75E-05	7.09E-08	2.21E-06	3.87E-06	6.75E-05	1.64E-09	2.20E-04
CY1	9.30E-05	2.52E-05	6.64E-08	2.21E-06	9.28E-06	2.52E-05	4.87E-10	1.60E-04
CY2	1.62E-04	3.14E-05	6.86E-08	2.88E-06	7.75E-06	3.14E-05	4.87E-10	2.40E-04
CH1	1.53E-04	2.24E-05	7.53E-08	2.77E-06	5.62E-06	2.24E-05	3.54E-09	2.10E-04
TP1	9.25E-03	1.48E-04	1.70E-07	2.88E-06	1.23E-03	1.48E-04	9.74E-10	1.08E-02
PC1	1.44E-03	4.08E-04	8.64E-08	3.32E-06	4.09E-04	4.08E-04	1.02E-09	2.67E-03
PR1	1.51E-04	3.19E-05	1.02E-07	3.32E-06	4.14E-06	3.19E-05	9.30E-10	2.20E-04

^a El HI se calcula sumando los HQ de Ingestión de Hg en agua y HQ de ingestión de Hg²⁺ en suelo

4 CONCLUSIONES

- El método analítico establecido para la determinación de Hg total en suelo presentó un LOQ menor a los descritos en la literatura por ICP-MS y el LOQ del método establecido para especiación de Hg fue comparable e incluso menor que para otros trabajos donde se utilizó ICP-MS.
- Las concentraciones de Hg total en muestras de agua de pozo de la región de Villa Hidalgo fueron menores a los límites máximos establecidos por la NOM-127-SSA1-1994 para agua de consumo humano, por lo que la exposición a Hg en agua no representó un riesgo para la población.
- La muestra de “La Taponá” fue la única que excedió el límite de Hg total establecido por la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 para suelo agrícola. Sin embargo, presenta poca movilidad en agua, ya que la mayor parte se encontraba unido a la fracción residual.
- De acuerdo con el análisis de correlación, se encontró una correlación significativa entre Hg total y Hg soluble en suelo con el contenido de Mn soluble en suelo. También se encontró que, a mayor concentración de Ca, menor disponibilidad del Hg. Esto se debe a la composición mineral del suelo.

- La baja movilidad de Hg en suelo (fracción residual) puede estar asociada a la composición mineral del suelo de esta región conformada principalmente por minerales que contienen silicatos de Ca, Al, Fe, K y Na.
- Mediante el procedimiento de fraccionamiento secuencial BCR se encontró que el 83.9 ± 6.2 % del Hg se encontraba en la fracción residual (unido principalmente a silicatos de Al, Ca, y Fe), 13.1 ± 6.7 % en la fracción oxidable (probablemente asociado a sulfuros y la superficie de la materia orgánica) y el 3.0 ± 2.2 % como fracción disponible para los seres vivos (fracción extraíble + fracción reducible).
- Se estimó un índice de riesgo (HI) <1 para la población de Villa Hidalgo por exposición a Hg en agua y Hg^{2+} en suelo, existiendo bajo riesgo de daños a la salud de tipo no carcinogénico, rechazando de esta manera la hipótesis planteada en este estudio.

5 REFERENCIAS

- [1] R. Bindler, R. L. Yu, S. Hansson, N. Classen, and J. Karlsson, "Mining, metallurgy and the historical origin of mercury pollution in lakes and watercourses in Central Sweden," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 46, no. 15, pp. 7984–7991, 2012.
- [2] G.-G. I., L. Tovar-Gálvez, Gavilán-García;A., S. Suárez, J. Olmos, and E. Santos-Santos, "Mercury speciation in contaminated soils from old mining activities in Mexico using a chemical selective extraction," *J. Mex. Chem. Soc.*, vol. 2008, 52(, pp. 263–271, 2008.
- [3] SGM, "Panorama minero del Estado de San Luis Potosí.," *Servicio Geológico Mexicano*, 2014. [Online]. Available: http://www.sgm.gob.mx/pdfs/SAN_LUIS_POTOSI.pdf. [Accessed: 01-Jan-2016].
- [4] N. Wang, G. Zhang, T. Liu, and Q. X. Cai, "Distribution of methyl mercury in *Rana chensinensis* and environmental media in gold-mining areas of upper reaches of Songhua River, China," *Chinese Geogr. Sci.*, vol. 20, no. 4, pp. 330–336, 2010.
- [5] R. Fernández-Martínez *et al.*, "Mercury accumulation and speciation in plants and soils from abandoned cinnabar mines," *Geoderma*, vol. 253–254, pp. 30–38, 2015.
- [6] E. P. A. (EPA), "Priority pollutant list," 2014. [Online]. Available: <http://www.epa.gov/sites/production/files/2015-09/documents/priority-pollutant-list-epa.pdf>. [Accessed: 20-Mar-2016].
- [7] OMS, "El mercurio y la salud.," 2017. [Online]. Available: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs361/es/>. [Accessed: 16-Nov-2017].
- [8] NAP, "Toxicological Effects of Methylmercury," *National Academy Press*, 2000. [Online]. Available: <http://www.nap.edu/catalog/9899.html>. [Accessed: 23-May-2017].
- [9] EA-UK, "Soil guideline values for mercury in soil.," *Environment Agency, UK*, 2009. [Online]. Available: http://residus.gencat.cat/web/.content/home/ambits_dactuacio/sols_contaminats/Cercasols_recurros_sol/Soil-Guideline-Values-for-mercury-in-soil-UK-Environment-Agency-March-2009.pdf. [Accessed: 12-Apr-2016].

- [10] RIIQ, “Hoja de seguridad: Óxido de Mercurio.,” *Red de Intercambio de Información Química*, 2014. [Online]. Available: http://www.estis.net/sites/cien-bo/default.asp?site=cien-bo&page_id=911F4B12-C171-4A02-98B8-570E49989ED1. [Accessed: 23-May-2017].
- [11] D. Harris, *Análisis Químico Cuantitativo*, 2a ed. Barcelona: Reverté, 2001.
- [12] S. S. . Yorifuji T., Kato T., “Intrauterine exposure to methylmercury and neurocognitive functions: Minamata disease.,” *Arch. Environ. Occup. Heal.*, vol. 70, no. 5, pp. 297–302, 2015.
- [13] A. M. Khodashenas E., Balali-Mood M., “Mercury poisoning in two 13-year-old twin sisters.,” *J. Res. Med. Sci.*, vol. 20, no. 3, pp. 308–311, 2015.
- [14] M. Jaishankar, T. Tseten, N. Anbalagan, M. B., and Beeregowda N., “Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals,” *Interdiscip. Toxicol.*, vol. 7, no. 2, pp. 60–72, 2014.
- [15] SSA, “Modificación a la norma oficial mexicana NOM-127-SSA1-1994, salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización.” 2000.
- [16] E. P. A. (EPA), “Ambient Water Quality Guidelines for Mercury,” 2001. [Online]. Available: <https://www.epa.gov/wqc/human-health-criteria-methylmercury>. [Accessed: 29-Jun-2017].
- [17] SEMARNAT, “Norma Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. Que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por As ,Ba ,Be , Cd , Cr VI ,Hg ,Ni , Ag ,Pb ,Se , Tl,” *Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales*, 2004. .
- [18] A. J. Zimmerman and D. C. Weindorf, “Heavy metal and trace metal analysis in soil by sequential extraction : A review of procedures,” *Int. J. Anal. Chem.*, vol. 2010, 2010.
- [19] A. Sahuquillo, G. Rauret, M. Bianchi, A. Rehnert, and H. Muntau, “Mercury determination in solid phases from application of the modified BCR-sequential extraction procedure: A valuable tool for assessing its mobility in sediments,” *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 375, no. 4, pp. 578–583, 2003.
- [20] P. Li, X. Feng, G. Qiu, L. Shang, and S. Wang, “Mercury pollution in Wuchuan mercury mining area, Guizhou, Southwestern China: The impacts from large scale and artisanal mercury mining,” *Environ. Int.*, vol. 42, pp. 59–66, Jul. 2012.

- [21] H. Martinez, “Ingesta de líquidos por adultos mexicanos; un estudio transversal,” *Nutr. Hosp.*, vol. 29, no. 5, pp. 1179–1187, 2014.
- [22] BVSDE, “Apéndice D: estimación de la dosis de exposición,” 2016. [Online]. Available: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/eco/030079/030079-10d.pdf>. [Accessed: 08-Apr-2017].
- [23] G. J. Zagury, C. M. Neculita, C. Bastien, and L. Deschenes, “Mercury fractionation, bioavailability, and ecotoxicity in highly contaminated soils from chlor-alkali plants,” *Environ. Toxicol. Chem.*, vol. 25, no. 4, pp. 1138–1147, 2006.
- [24] L.-C. J. Páez-Osuna F., Bojórquez-Leyva H., Bergés-Tiznado O., -Hernández A., Fierro-Sañudo J., Ramírez-Rochín J., “Heavy metals in waters and suspended sediments affected by a mine tailing spill in the upper San Lorenzo River , Northwestern Mexico,” *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, no. 94, pp. 583–588, 2015.
- [25] G.-B. J. González-Dávila O. Ruíz-Huerta E., “Plants and soil contamination with heavy metals in agricultural areas of Guadalupe, Zacatecas, Mexico,” *Environmental Contamination*, 2012. [Online]. Available: www.intechopen.com. [Accessed: 11-Apr-2016].
- [26] F. Q. Ogura T., Ramírez-Ortiz J., Arroyo-Villaseñor Z., Hernández-Martínez S., Palafox-Hernández J., García L., “Zacatecas (Mexico) companies extract Hg from surface soil contaminated by ancient mining industries,” *Water, Air Soil Pollut.*, vol. 148, no. 1640, pp. 167–177, 2003.
- [27] G. Levresse *et al.*, “Science of the Total Environment Phytoavailability of antimony and heavy metals in arid regions : The case of the Wadley Sb district (San Luis , Potosí , Mexico),” *Sci. Total Environ.*, vol. 427–428, pp. 115–125, 2012.
- [28] O. Morton-Bermea *et al.*, “Anthropogenic impact of the use of Hg in mining activities in Cedral SLP Mexico,” *Environmental Earth Sciences*, 2015. [Online]. Available: https://www.researchgate.net/publication/272430105_Anthropogenic_impact_of_the_use_of_Hg_in_mining_activities_in_Cedral_SLP_Mexico. [Accessed: 16-Oct-2017].
- [29] S. M. Wilhelm M., Schulz C., “Revised and new reference values for arsenic , cadmium , lead , and mercury in blood or urine of children : Basis for validation of human biomonitoring data in environmental medicine,” *Int. J. Hyg. Environ. Health*, vol. 209, pp. 301–305, 2006.
- [30] C. Lou, X. Liu, Y. Nie, and S. Emslie, “Fractionation distribution and preliminary ecological

risk assessment of As, Hg and Cd in ornithogenic sediments from the Ross Sea region, East Antarctica,” *Sci. Total Environ.*, vol. 538, pp. 644–653, 2015.

- [31] L. Carrasco and E. Vassileva, “Determination of methylmercury in marine sediment samples: Method validation and occurrence data,” *Anal. Chim. Acta*, vol. 853, pp. 167–178, 2015.
- [32] R. Jagtap, F. Krikowa, W. Maher, S. Foster, and M. Ellwood, “Measurement of methyl mercury (I) and mercury (II) in fish tissues and sediments by HPLC-ICPMS and HPLC-HGAAS,” *Talanta*, vol. 85, no. 1, pp. 49–55, 2011.
- [33] G. M. M. Rahman and H. M. Kingston, “Development of a microwave-assisted extraction method and isotopic validation of mercury species in soils and sediments,” *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 20, no. 3, pp. 183–191, 2005.
- [34] EPA, “Method 3200: mercury species fractionation and quantification by microwave assisted extraction, selective solvent extraction and/ or solid phase extraction,” 2014. [Online]. Available: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/3200.pdf>. [Accessed: 12-Mar-2017].
- [35] L. N. Liang, G. Bin Jiang, J. F. Liu, and J. T. Hu, “Speciation analysis of mercury in seafood by using high-performance liquid chromatography on-line coupled with cold-vapor atomic fluorescence spectrometry via a post column microwave digestion,” *Anal. Chim. Acta*, vol. 477, no. 1, pp. 131–137, 2003.
- [36] Y. Li, X. P. Yan, L. M. Dong, S. W. Wang, Y. Jiang, and D. Q. Jiang, “Development of an ambient temperature post-column oxidation system for high-performance liquid chromatography on-line coupled with cold vapor atomic fluorescence spectrometry for mercury speciation in seafood,” *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 20, no. 5, pp. 467–472, 2005.
- [37] L. Zheng, Q. Tang, J. Fan, X. Huang, C. Jiang, and H. Cheng, “Distribution and health risk assessment of mercury in urban street dust from coal energy dominant Huainan City, China,” *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 22, no. 12, pp. 9316–9322, 2015.
- [38] J. Arredondo-García, A. Méndez-Herrera, H. Medina-Cortina, and C. Pimentel-Hernández, “Agua: la importancia de una ingesta adecuada en pediatría,” *Acta Pediatr. Mex.*, vol. 38, no. 22, pp. 116–124, 2017.
- [39] E. Kelepertzis, “Ecotoxicology and environmental safety investigating the sources and

- potential health risks of environmental contaminants in the soils and drinking waters from the rural clusters in Thiva area (Greece),” *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, vol. 100, pp. 258–265, 2014.
- [40] A. E. Paisio C., González P., Talano A., “Remediación biológica de mercurio: Recientes avances,” *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal*, vol. 3, no. 2, pp. 119–146, 2012.
- [41] IUPAC, “Clinical chemistry section , commission on toxicology guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions , structurl aspects , and methodological approaches guidelines for terms related to chemical speciation,” *Clin. Chem.*, vol. 72, no. 8, pp. 1453–1470, 2000.
- [42] C.-C. Brombach *et al.*, “Direct online HPLC-CV-AFS method for traces of methylmercury without derivatisation: a matrix-independent method for urine, sediment and biological tissue samples,” *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 407, no. 3, pp. 973–981, 2015.
- [43] G. Leng, L. Feng, S.-B. Li, P. Yang, and D.-Z. Dan, “Speciation analysis of mercury in sediments using HPLC hyphenated to Vapour Generation Atomic Fluorescence Spectrometry following microwave-assisted extraction,” *LCGC Eur.*, vol. 26, no. 5, pp. 250–258, 2013.
- [44] J. Szakova *et al.*, “Effects of the soil microbial community on mobile proportions and speciation of mercury (Hg) in contaminated soil,” *J. Environ. Sci. Heal. Part a-Toxic/Hazardous Subst. Environ. Eng.*, vol. 51, no. 4, pp. 364–370, 2016.
- [45] S. A. Ibanez C., Lopez F., “Inorganic mercury and methylmercury determination in polluted waters by HPLC coupled to cold vapour atomic fluorescence spectroscopy,” *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, vol. 92, no. 7, pp. 909–921, 2012.
- [46] INEGI, “Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. San Luis Potosí,” 2009. [Online]. Available: <http://www.beta.inegi.org.mx/app/biblioteca/ficha.html?upc=702825293130>. [Accessed: 22-Nov-2016].
- [47] J. L. Guzmán-Mar, L. Hinojosa-Reyes, A. M. Serra, A. Hernández-Ramírez, and V. Cerdà, “Applicability of multisyringe chromatography coupled to cold-vapor atomic fluorescence spectrometry for mercury speciation analysis,” *Anal. Chim. Acta*, vol. 708, no. 1–2, pp. 11–18, 2011.

- [48] D. P. C. de Quadros, B. Campanella, M. Onor, E. Bramanti, D. L. G. Borges, and A. D'Ulivo, "Mercury speciation by high-performance liquid chromatography atomic fluorescence spectrometry using an integrated microwave/UV interface. Optimization of a single step procedure for the simultaneous photo-oxidation of mercury species and photo-generation," *Spectrochim. Acta Part B-Atomic Spectrosc.*, vol. 101, pp. 312–319, 2014.
- [49] F. Rouseac and A. Rouseac, *Análisis Químico. Métodos y técnicas instrumentales modernas.*, 5a ed. 2003.
- [50] A. Quintero-Alonso, "Caracterización y propuesta d manejo de la microcuenca Corazones, Villa Hidalgo, SLP.," Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Autónoma de SLP., 2014.
- [51] C. Ruiz, "Contenido de materia orgánica y fertilidad," 2016. [Online]. Available: http://stadium.unad.edu.co/preview/UNAD.php?url=/bitstream/10596/9789/1/401543_Material_didactico_Quimica_Agricola.pdf. [Accessed: 04-Jun-2016].
- [52] SEMARNAT, "NMX-AA-132-SCFI-2006: Muestreo de suelos para la identificación y la cuantificación de metales y metaloides, y manejo de la muestra," 2006. [Online]. Available: http://www.cmic.org.mx/comisiones/Sectoriales/medioambiente/Varios/Leyes_y_Normas_SEMARNAT/NMX/Contaminación del Suelo/2.2006.pdf. [Accessed: 06-Apr-2016].
- [53] SSA, "Norma Oficial Mexicana. NOM-014-SSA1-1993 'Procedimientos sanitarios para el muestreo de agua para su uso y consumo humano en sistemas de abastecimiento de agua públicos y privados'.," 1993. [Online]. Available: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/014ssa13.html>. [Accessed: 08-Feb-2016].
- [54] Pueblos-América, "Pueblos América," 2017. [Online]. Available: www.pueblosamerica.com. [Accessed: 01-Jan-2017].
- [55] SSA, "NORMA Oficial Mexicana NOM-230-SSA1-2002, Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano, requisitos sanitarios que se deben cumplir en los sistemas de abastecimiento públicos y privados durante el manejo del agua. Procedimientos sanitarios para el muest," 2002. [Online]. Available: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/230ssa102.html>. [Accessed: 06-Apr-2016].
- [56] Secretaría de Economía, "NMX-AA-036 SCFI-2001 Determinación de acidez y alcalinidad en aguas naturales , residuales y residuales tratadas - Método de prueba.," *D. Of. la Fed.*, 2001.

- [57] CONAGUA, “NMX-AA-072-SCFI-2001. Análisis de agua-Determinación de dureza total en aguas naturales, residuales y residuales tratadas-Método de prueba.” 2001. [Online]. Available: http://lasa.ciga.unam.mx/monitoreo/images/biblioteca/45_NMX-AA-072-SCFI-2001_Dureza.pdf. [Accessed: 06-Apr-2016].
- [58] I. L. S. Almeida, M. D. R. Oliveira, J. B. B. Silva, and N. M. M. Coelho, “Suitable extraction of soils and sediments for mercury species and determination combined with the cold vapor generation atomic absorption spectrometry technique,” *Microchem. J.*, vol. 124, pp. 326–330, 2016.
- [59] S. Covelli, I. Protopsalti, A. Acquavita, M. Sperle, M. Bonardi, and A. Emili, “Spatial variation, speciation and sedimentary records of mercury in the Guanabara Bay (Rio de Janeiro, Brazil),” *Cont. Shelf Res.*, vol. 35, pp. 29–42, 2012.
- [60] G. M. M. Rahman, H. M. Kingston, J. C. Kern, S. W. Hartwell, R. F. Anderson, and S. Y. Yang, “Inter-laboratory validation of IPA method 3200 for mercury speciation analysis using prepared soil reference materials,” *Appl. Organomet. Chem.*, vol. 19, no. 3, pp. 301–307, 2005.
- [61] R.-A. J. Rodríguez-Fuentes H., *Métodos de análisis de suelos y plantas*, 3era ed. México: Editorial Trillas, 2015.
- [62] A. Palomares, “Contaminación del agua por nitratos y técnicas para su tratamiento.” *Esfera del agua*, 2013. [Online]. Available: <http://www.esferadelagua.es/agua-y-tecnologia/contaminacion-del-agua-por-nitratos-y-tecnicas-para-su-tratamiento>. [Accessed: 18-Jul-2017].
- [63] F. Bautista, *Introducción al estudio de la contaminación del suelo por metales pesados.*, 1a ed. Universidad Autónoma de Yucatán, 1999.
- [64] J. M. Rosas-Castor, “Tesis de Doctorado: Estudio de la acumulación, transferencia y especiación de arsénico en cultivos de maíz y su riesgo potencial para la salud humana,” Universidad Autónoma de Nuevo León, 2015.
- [65] EPA, “Ecological soil screening level for lead interim final,” *US Environmental Protection Agency - Office of Solid Waste and Emergency*, 2005. [Online]. Available: https://rais.ornl.gov/documents/eco-ssl_iron.pdf.
- [66] N. Roca, M. S. Pazos, and J. Bech, “Disponibilidad de cobre, hierro, manganeso, zinc en

suelos del Noroeste Argentino,” *Cienc. del Suelo*, vol. 25, no. 1, pp. 31–42, 2007.

- [67] CCME, “Canadian Soil Quality Guidelines for the Protection of Environmental and Human Health.” Canadian Council Ministres of Environment, 1999.
- [68] S. Wang, Z. Nan, D. Prete, J. Ma, Q. Liao, and Q. Zhang, “Science of the Total Environment Accumulation , transfer , and potential sources of mercury in the soil-wheat system under field conditions over the Loess Plateau , northwest China,” *Sci. Total Environ.*, vol. 568, pp. 245–252, 2016.
- [69] M.-T. S. *et al.*, “Total mercury in terrestrial systems (air-soil-plant-water) at the mining region of San Joaquín , Queretaro, Mexico.,” *GEOFÍSICA Int.*, 2012.
- [70] EPA, “EPA 3050B: acid digestion of sediments, sludges and soils.,” 1996. [Online]. Available: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-06/documents/epa-3050b.pdf>. [Accessed: 18-Mar-2016].

ANEXOS

Anexo 1: Implementación de método para la determinación de Hg por VG-AFS

Para determinar la concentración de Hg total en muestras, tanto de agua, como de suelo y extractos acuosos, fue necesario evaluar diferentes concentraciones de NaOH, NaBH₄ y HCl, así como distintas temperaturas para la generación de vapor de Hg elemental. Para ello, la concentración de NaBH₄ se varió de 0.03, 0.05 y 0.07 % p/v, la concentración de NaOH 0.25, 0.5 y 1.0 % p/v y la de HCl al 3.0, 4.5 y 5.0 % v/v, respectivamente (Tabla A1).

Tabla A1 Concentraciones evaluadas de NaOH, NaBH₄ y HCl para la determinación de Hg por VG-AFS

Reactivo evaluado	Concentraciones evaluadas (% p/v o v/v)	Condiciones de prueba fijas
NaBH ₄	0.01, 0.03, 0.05 y 0.07	NaOH 0.5 %. y HCl 5 %
NaOH	0.25, 0.50, 1.00 y 2.00	NaBH ₄ 0.05 % y HCl 5 %
HCl	1.5, 3.0, 4.5 y 5.0	NaOH 0.5 % y NaBH ₄ 0.05 %

Se eligieron en cada prueba las condiciones experimentales que generaran la mayor intensidad de fluorescencia en el equipo de VG-AFS. Las condiciones que permitieron una mayor intensidad de la señal fueron: NaBH₄ al 0.03 % p/v, NaOH 0.5 % p/v y HCl 3 % v/v. Al observar la intensidad de señal (IF) con respecto a la concentración de NaBH₄, se encontró que era más intensa a una concentración de 0.03 % (Figura A1.a), ya que a concentraciones más altas (0.05 y 0.07 %), la

intensidad de fluorescencia caía drásticamente, probablemente porque el reactivo a mayor concentración era menos estable.

La concentración de NaOH donde se detectaba mayor intensidad de fluorescencia fue al 0.5 % (Figura A1.b), a concentraciones más bajas no era capaz de mantener estable al NaBH₄ y a concentraciones más altas podría elevar el pH de trabajo, impidiendo que se liberen los iones H⁺, por otra parte, una concentración de HCl mayores al 3 % (Figura A1.c), podría elevar la viscosidad de la solución donde se acarrea la muestra y dificultar la formación del vapor de Hg [55].

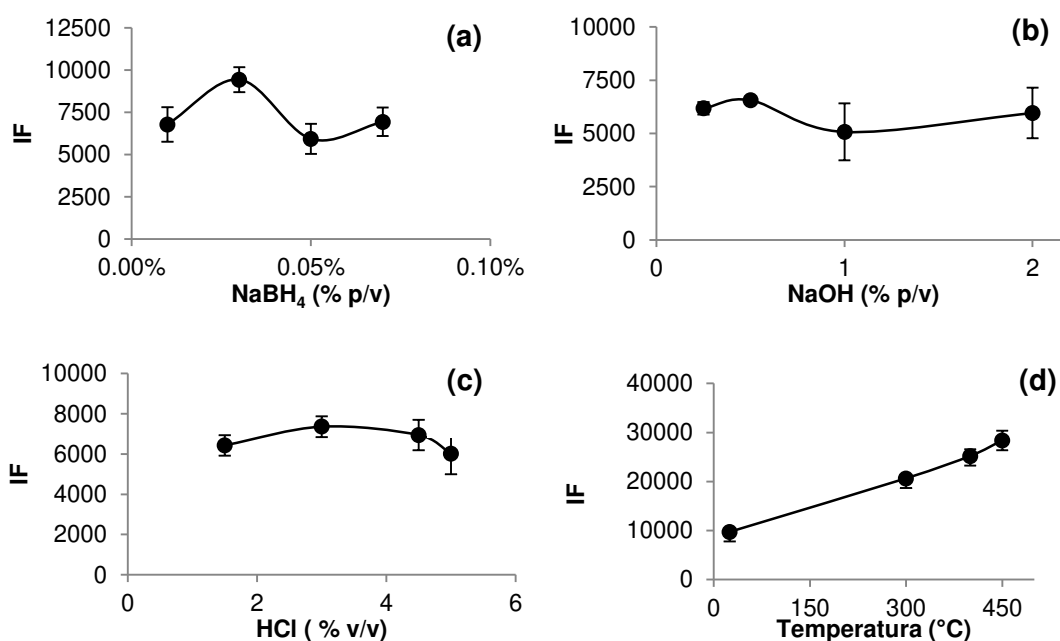


Figura A1. Efecto de a) concentración de NaBH₄, b) concentración de NaOH, c) concentración de HCl, y d) temperatura sobre la intensidad de fluorescencia para estándar de Hg²⁺ 10 µg/L

En el caso de la temperatura de atomización, la que tuvo menor fluctuación en la señal medida entre repeticiones fue 300 °C, como se puede observar en la figura A1.d, en la cual, a 300 °C la intensidad de la señal es cercana a las intensidades a 400°C y 450°C, pero con menor desviación estándar, lo cual hacía las mediciones más precisas. Cada parámetro se evaluó de manera univariante. El incremento en la intensidad de la señal de fluorescencia se atribuyó a una mayor cantidad de vapor de mercurio elemental generado y mayor cantidad de átomos de Hg libres.

Anexo 2: Implementación del método de digestión de suelos para determinación de Hg total

Para poder determinar el Hg total en muestras de suelo, fue necesario implementar un método de digestión que fuera capaz de obtener todo el Hg presente en las muestras a pesar de las interferencias que puedan existir al trabajar en una matriz tan compleja como el suelo.

Debido a esto, se decidió evaluar tres métodos descritos en la literatura, modificando las relaciones de HNO₃, HCl y H₂O₂, temperaturas y tiempo de digestión en el material de referencia “ERA”, lote D069-540, un material de referencia con una concentración de mercurio de 1-35 mg/kg de Hg. Los métodos evaluados se muestran en la Tabla A2.

Tabla A2 Métodos de digestión asistidos por microondas evaluados para la determinación de Hg total en suelo

Método 1	Método 2	Método 3
5 mL HNO ₃ conc.[69] y 3 mL HCl conc.[17], predigerir a temperatura ambiente 20 min. Digerir a 170°C/20 min [28]	4 mL HNO ₃ conc. y 3 mL HCl conc.[17], predigerir a temperatura ambiente, 20 min. Digerir a 180°C/20 min [28]	4 mL HNO ₃ conc., 2 mL H ₂ O ₂ al 30 % [70] y 1 mL HCl conc., predigerir a temperatura ambiente, 20 min. Digerir a 180°C/20 min

Una vez evaluados los tres métodos, se seleccionó el que tuviera mayor % de recuperación. El método con el mejor porcentaje de recuperación fue el número 3, con 102%. En la figura A2 pueden observarse las diferencias en los porcentajes de recuperación de los 3 métodos de digestión de suelos. El hecho de que el método

3 haya tenido el mejor porcentaje de recuperación, pudo deberse a que este procedimiento emplea un mayor porcentaje de agentes oxidantes (HNO_3 y H_2O_2 al 30 %) lo que favorece la liberación de mercurio de la matriz del suelo. La adición de H_2O_2 y el haber tenido una temperatura menor debió influir para que el método 1 fuera en que tuviera el porcentaje de recuperación más bajo, ya que tuvo menor poder oxidante. El método 2, fue muy similar al método 1 en cuanto a rendimiento ya que tampoco incluyó el poder oxidante del H_2O_2 por lo que no fue capaz de extraer todo el mercurio de la muestra. Es por ello que en muchos métodos se incluye el empleo de H_2O_2 [52], para oxidar materia orgánica y extraer el Hg que no pueda ser obtenido utilizando solo ácidos.

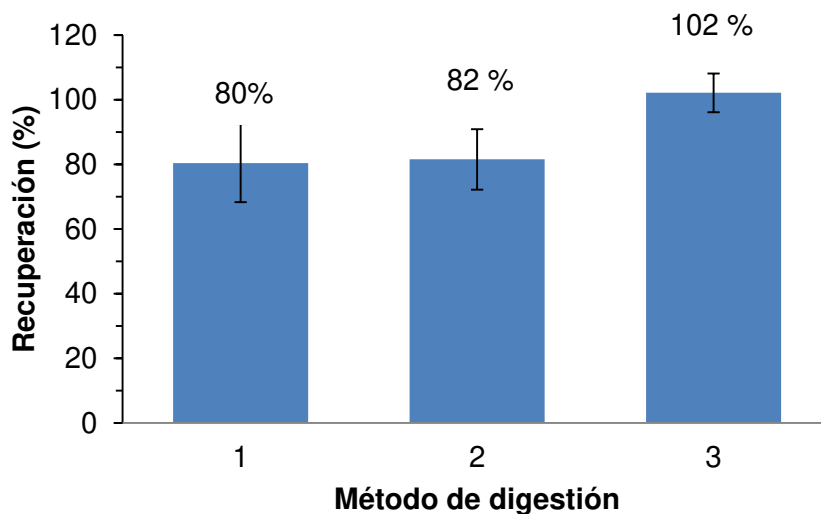


Figura A2 Porcentajes de recuperación de Hg total en suelo (material de referencia ERA060) para los métodos de digestión ácida asistidos por microondas

Posteriormente se validó el método de digestión 3, evaluando la exactitud mediante el análisis del material certificado CRM027 (suelo franco-arenoso). La concentración de Hg total certificado en el material CRM027 fue 20.4 ± 0.7 mg/kg comparado con el valor de Hg total determinado por VG-AFS de 23.0 ± 2.0 mg/kg, no observando diferencias estadísticamente significativas ($p=0.05$).

El procedimiento de determinación de Hg total fue validado mediante el análisis del material de referencia CRM 027-50G, lote #LRAA 7890 "*Trace metals- Sandy Loam*". Una vez validado el método de digestión, se llevó a cabo el análisis de Hg total en las muestras de suelo de Villa Hidalgo, San Luis Potosí. Se pesaron 0.20 g de suelo de cada sitio muestreado y se aplicó el procedimiento de digestión seleccionado a todas las muestras fueron centrifugadas a 5000 rpm durante 10 min y posteriormente se analizó el sobrenadante por VG-AFS.

Anexo 3: Implementación de las condiciones de extracción de especies de Hg en suelos

Con el fin de seleccionar un agente extractante para obtener las especies de Hg, se evaluaron tres agentes extractantes: 2-mercaptoetanol 0.5 % v/v, KOH 25 % p/p en metanol y HNO₃ 4 M (ver tabla A3). Los agentes extractantes se evaluaron en las mismas condiciones: 3 h a 75 °C en baño de agua en la muestra de suelo TP1. Previo a la extracción, las muestras se agitaron durante 1 min y posteriormente 1 min cada h durante la extracción en el vórtex para asegurar la homogeneidad de la muestra. Una vez realizada la extracción, se les agregó agua hasta llevarlos a un peso de 20 g, luego se centrifugaron a 5000 rpm por 10 min y se filtraron con filtro Whatman No. 40 y se guardó el sobrenadante (extracto) para su posterior análisis.

Tabla A3 Métodos de extracción evaluados para la determinación de CH₃Hg⁺ en suelo

Extractante	Referencia
2-mercaptoetanol 0.5 % v/v	[31, 32]
KOH 25 % p/p en metanol	[31]
HNO ₃ 4 M	[60]

En los extractos, se determinó el Hg total por VG-AFS descritos en la sección 2.7 y 2.8.1 para seleccionar el agente extractante en base al porcentaje de Hg total recuperado. Los resultados se muestran en la tabla A4.

Tabla A4 Comparación entre agentes extractantes para especiación de mercurio en suelos

Extractante	Hg total por digestión ácida ($\mu\text{g}/\text{kg}$) ^a	Hg total por extracción ($\mu\text{g}/\text{kg}$) ^{a,b} y % recuperación	Hg ²⁺ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)/ %Rec. ^{a,b}	CH ₃ Hg ⁺ ($\mu\text{g}/\text{kg}$) ^{a,c}
2-mercaptoetanol 0.5 % (v/v)	41,760 \pm 1840	4299.4 \pm 74.3 (10.3 %)	594 \pm 17.8 (1.4 %)	<LOD
KOH 25 % p/p en metanol	41,760 \pm 1840	1398 \pm 125 (3.3 %)	499.7 \pm 55.2 (1.2 %)	<LOD
HNO ₃ 4M	41,760 \pm 1840	7147 \pm 596 (17.1 %)	4829.6 \pm 869 (11.6 %)	<LOD

^a La evaluación se realizó en la muestra TP1 ("La Taponá")

^b % de recuperación se determinó con respecto al Hg total obtenido por digestión ácida. ^c LOD para CH₃Hg⁺ es 2.03 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

El extractante seleccionado fue HNO₃ 4 M, donde se obtuvo el porcentaje de recuperación más alto para Hg total (17.1 %). Este extractante ya se ha reportado en trabajos anteriores [33], y como parte del Método EPA 3200 para extracción con microondas de especies Hg en suelos y sedimentos, a 100°C/ 10 min [34]. Con la finalidad de reducir el tiempo de preparación de muestra y mejorar el rendimiento de extracción, el proceso de extracción empleando HNO₃ 4 M fue asistido por microondas. Para evaluar la exactitud del método de extracción, el procedimiento elegido fue aplicado sobre 1.0 g de muestra del sitio CC2, cuya concentración de Hg total fue menor en los sitios de estudio (340 $\mu\text{g}/\text{kg}$). La muestra fue enriquecida con 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de CH₃Hg⁺ y 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de Hg²⁺. El análisis de especiación se realizó por HPLC-VG-AFS. En la Figura A3 a) y b) se pueden observar los cromatogramas de especiación de la muestra CC2.

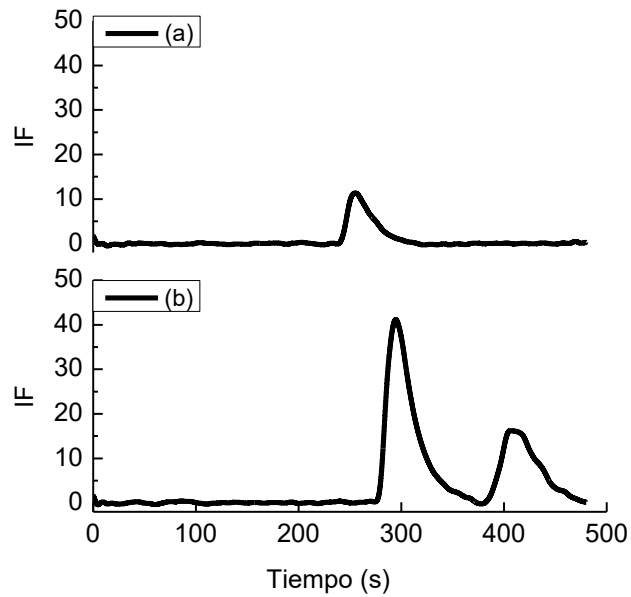


Figura A3 Cromatogramas de especiación de muestra CC2: a) muestra CC2 sin enriquecer y b) muestra CC2 enriquecida con Hg^{2+} y CH_3Hg^+ ($50 \mu\text{g}/\text{kg}$ de c/u).

Se evaluó el porcentaje de recuperación de Hg^{2+} como de CH_3Hg^+ en la muestra de suelo y los resultados se presentan en la tabla A5. Los porcentajes de recuperación de 100.7 % para Hg^{2+} y 98 % para CH_3Hg^+ , lo cual indica que el método de especiación es confiable para determinar estas especies de mercurio en muestras de suelo. Además, el resultado indica que no existe interconversión o degradación de especies durante el proceso de extracción y análisis. Posteriormente, la metodología de extracción asistida por microondas fue aplicada a las muestras de Villa Hidalgo.

Tabla A5 Resultados de recuperación de Hg²⁺ y CH₃Hg⁺ en el suelo del sitio CC2

Hg Total en CC2 (µg/kg)	Hg ²⁺ en CC2 (µg/kg)	CH ₃ Hg ⁺ en CC2 (µg/kg) ^a	Hg ²⁺ adicionado a CC2	CH ₃ Hg ⁺ adicionado a CC2	% Rec. Hg ²⁺ adicionado	% Rec. CH ₃ Hg ⁺ adicionado
340±10	305±3	<LOD	50 µg/kg	50 (µg/kg)	100.7 % (50.3 µg/kg)	98.0 % (49 µg/kg)

^aLOD para CH₃Hg⁺: 2.03 µg/kg. n=2.

RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

Gabriela Elizabeth Quintanilla Villanueva

Candidata para el Grado de:

Maestra en Ciencias con orientación en Química Analítica Ambiental, UANL

Tesis: **FRACCIONAMIENTO Y ESPECIACIÓN DE MERCURIO EN ZONAS CON ACTIVIDAD MINERA DE SAN LUIS POTOSÍ Y SU EVALUACIÓN DEL RIESGO POTENCIAL PARA LA SALUD HUMANA.**

BIOGRAFÍA

Datos personales: Nacida en Monterrey, Nuevo León el 16 de octubre de 1984, hija de José Refugio Quintanilla Gaona y María Onecima Villanueva Hernández.

Educación: Egresada de la Universidad Autónoma de Nuevo León, grado obtenido Químico Bacteriólogo Parasitólogo en 2005.

Experiencia profesional:

- Servicios de Ingeniería y Consultoría Ambiental (SICA). DE 2014 a 2016.
Analista de laboratorio en microbiología y en el área de metales pesados.

- Arca Continental. 2013. Analista de laboratorio e inspectora de calidad.

- Hielati Italiano, S.A. de C.V. De 2010 a 2012. Encargada de laboratorio de calidad.

- Granja Planta La Perla. De 2007 a 2010. Encargada de laboratorio de calidad.
- Centro de Distribución de Perecederos de Soriana. De 2006 a 2007. Encargada de la recepción de productos perecederos e inspectora de calidad.