




# Metodología para la determinación de Hg en sedimentos y aguas empleando EAA

Methodology for the determination of Hg in sediments and water using AAS

E. Humberto-Pérez ; F. A. Muñoz-Perdomo ; R. Sarria-Villa 

DOI: <https://doi.org/10.22517/23447214.25167>

Artículo de investigación científica y tecnológica

**Abstract**— The use of Hg in gold mining processes generates waste with a high content of this heavy metal, which can reach different aqueous media due to its constant discharge. In areas of mining activity such as the municipality of Suarez-Cauca, mercury levels between 0,094 µg/L and 1,000 µg/L have been found in micro-basins near gold beneficiation plants. According to the above, an analytical methodology for the determination of mercury (Hg) by Cold Vapor-Atomic Absorption Spectroscopy (CV-AAS) was validated taking into account the levels allowed by the EPA SW-846 standard for water samples and sediments. This work began with the implementation of Hg calibration curves and digestion processes to determine linearity, repeatability, and working range. The known concentration standards and real samples were evaluated under the typical analytical characteristics in the validation such as linearity, detection limit, quantification limit, precision, accuracy, repeatability, reproducibility, recovery percentages and uncertainty. The validated methodology met the required statistical parameters such as linearity and instrumental precision, registering variation coefficients less than 3%, a quantification limit of 0,35 µg/L and recovery percentages between 97,26 and 101,62%. A performance test was performed with reference samples to ensure reliable analytical results. Values of uncertainties of  $\pm 0,064$ ,  $\pm 0,0440$  and  $\pm 0,0410$  were obtained for liquid, solid and leached solid samples respectively. Real samples were taken to be analyzed with the validated method. The results obtained allow the determination of Hg in water and sediments in the environmental laboratory of the C.R.C of Popayán-Colombia.

**Index terms**— Analysis, heavy metals, mercury, pollution, quantification.

**Resumen**— El uso de Hg en los procesos de minería del oro genera residuos con altos contenidos de este metal pesado, que puede llegar a diferentes medios acuosos por su constante descarga. En zonas de actividad minera como el municipio de Suarez-Cauca, se han encontrado en aguas de microcuencas cercanas a plantas de beneficiaderos de oro niveles de mercurio entre 0,094 µg/L y 1,000 µg/L. De acuerdo a lo anterior, se validó una metodología analítica para la determinación de mercurio (Hg) por Espectroscopía de Absorción Atómica-Vapor Frio (EAA-VF) teniendo en cuenta los niveles permitidos por la norma EPA SW-846 para muestras de aguas y sedimentos. Este trabajo se inició con la implementación de las curvas de calibración de Hg y de los procesos de digestión para determinar la linealidad, repetibilidad y el rango de trabajo.

Los estándares de concentración conocida y muestras reales se evaluaron bajo las características analíticas típicas en la validación como linealidad, límite de detección, límite de cuantificación, precisión, exactitud, repetibilidad, reproducibilidad, porcentajes de recuperación e incertidumbre. La metodología validada cumplió con los parámetros estadísticos requeridos como linealidad y precisión instrumental registrando coeficientes de variación menores al 3%, un límite de cuantificación de 0,35 µg/L y porcentajes de recuperación entre el 97,26 y 101,62%. Se realizó una prueba de desempeño con muestras de referencia para garantizar resultados analíticos confiables. Valores de incertidumbres de  $\pm 0,064$ ,  $\pm 0,0440$  y  $\pm 0,0410$  fueron obtenidas para muestras líquidas, sólidas y lixiviados de sólidos respectivamente. Muestras reales fueron tomadas para ser analizadas aplicando el método validado. Los resultados obtenidos permiten la determinación de Hg en aguas y sedimentos en el laboratorio ambiental de la C.R.C de Popayán-Colombia.

**Palabras claves**— Análisis, contaminación, cuantificación, metales pesados, mercurio.

## I. INTRODUCTION

El mercurio es un metal que se caracteriza por ser líquido e inodoro a temperatura ambiente, es uno de los metales pesados más peligrosos por su efecto negativo sobre la salud humana y al ambiente. Como la mayoría de sustancias tóxicas, el mercurio puede afectar el cuerpo humano vía ingestión, ruta oral, inhalación y contacto con la piel. Se han encontrado efectos negativos del mercurio sobre los sistemas nervioso, inmune y cardiovascular, fallas respiratorias y daños en el riñón [1]. Su uso para la amalgamación del oro en la minería colombiana, es una práctica que se ha hecho muy común. La amalgama producida entre mercurio y el oro, es una mezcla no homogénea producida por la alta densidad de estos metales donde el oro rompe las fuerzas de tensión superficial del mercurio para quedar atrapado dentro de éste [2]. La minería del oro en Colombia mediante el uso de mercurio genera lodos, arenas y desechos que son residuos y generalmente son vertidos a las fuentes hídricas o depositados en fosas sin tratamiento adecuado que pueden dar origen a polución con vapor de mercurio o, bajo ciertas condiciones ambientales la producción

Este manuscrito fue enviado el 19 de junio de 2021 y aceptado el 14 de julio de 2023

E. H. Pérez, trabaja en el Departamento de Química de la Universidad del Cauca, Colombia (correo electrónico: ehperz@unicauca.edu.co).

F. Perdomo, Es Químico de la Universidad del Cauca, Colombia (e-mail: fabianperdomo@unicauca.edu.co)

R. Sarria-Villa, trabaja en el Departamento de Química de la Universidad del Cauca, Colombia (e-mail: rodrigosv@unicauca.edu.co).



de metilmercurio, la fuente principal de polución en la industria minera corresponde a las emanaciones de mercurio gaseoso, mayormente como mercurio metálico ( $Hg^0$ ) adicionado durante la quema de amalgamas y que se precipita con la lluvia sobre los suelos circundantes como mercurio divalente ( $Hg^{2+}$ ); una vez llega a la superficie del suelo, mediante procesos de óxido-reducción se genera mercurio elemental gaseoso ( $Hg^0$ ) [3]. Los departamentos de mayor producción de oro en Colombia son: Antioquia, Chocó, Nariño, Caldas, Tolima y Cauca [2]. En el municipio de Suarez-Cauca se han reportado concentraciones de mercurio entre 0,094  $\mu g/L$  y 1,000  $\mu g/L$  en fuentes de agua cercanas a plantas de beneficiadero de oro [4]. Las principales fuentes antropogénicas del mercurio son la minería, el uso industrial en catálisis, manufactura de equipos eléctricos, pinturas, fabricación de plaguicidas, etc. En el uso agrícola el mercurio puede pasar al ambiente en semillas, raíces, bulbos, e incluso sobre la planta misma. Puede ir a la atmósfera por los vertidos industriales o por la combustión de carbones, desde donde se introduce en las cadenas tróficas por el ciclo del agua o bien se inhala directamente. También entra directamente en el ciclo del agua, mediante el vertido de residuos a las aguas de residuos y mares, y a través de vertidos industriales y domésticos. El método 1311 (TCLP) de la EPA permitió determinar si la parte residual de los procesos de lixiviación resultantes de la minería en Colombia representa peligros con base a la concentración de mercurio lixiviado, y se aplicó bajo la norma técnica colombiana NTC-ISO/IEC 17025 [5] determinando las mejores condiciones para el desarrollo experimental y la estandarización instrumental del equipo de espectroscopía de Absorción Atómica con generador de hidruros (EAA-GH) con el fin de llevar a cabo el proceso de verificación y acreditación para el laboratorio ambiental de la CRC-Popayán-Cauca. Se realizó la validación del método de determinación de mercurio teniendo en cuenta la exactitud, precisión, linealidad, los límites críticos e incertidumbre. La prueba de evaluación de desempeño consistió en el análisis de muestras certificadas. La calidad de las muestras fue garantizada por proveedores acreditados internacionalmente bajo las guías ILAC G13 e ISO/IEC Guide 43-1. Los valores de referencia utilizados para la evaluación de los resultados reportados fueron certificados por el proveedor [6]. Mediante este tipo de pruebas de evaluación de desempeño se evidencia la competencia técnica que cada uno de los laboratorios que participan tiene sobre las metodologías analíticas y a su vez estas pruebas constituyen un requisito para acceder y mantener la acreditación otorgada por el IDEAM, en la cual se debe participar como mínimo una vez al año. Estas pruebas ayudan a resaltar el desempeño de la reproducibilidad entre laboratorios y los errores sistemáticos, es decir, el sesgo. El análisis estadístico de los resultados se realizó mediante el paquete estadístico SPSS versión 22,0, software que facilitó el análisis de los datos. Se realizaron pruebas de normalidad para determinar la aplicación de pruebas paramétricas o no paramétricas. Para la determinación de mercurio se empleó la técnica analítica de espectroscopía de absorción atómica-vapor frío (EAA-VF) aprovechando su estado líquido y alta presión de vapor a temperatura ambiente. Existen numerosas formas químicas de mercurio, incluyendo vapores de mercurio elemental ( $Hg$ ), cationes mercurioso ( $Hg(I)$ ), mercuríco ( $Hg(II)$ ) y compuestos de mercurio orgánico [7]. Con este método

todo el mercurio en forma iónica es reducido para formar vapor de mercurio elemental usando un reductor como el cloruro estañoso ( $SnCl_2$ ), bajo condiciones estándar de reacción [8]. Los átomos de mercurio en vapor absorben la radiación de la lámpara de mercurio para su determinación por EAA-VF, donde el flujo del vapor de mercurio transportado por el gas a una celda dual situada a lo largo del paso óptico del espectrofotómetro el cual, estando acoplado al equipo de generación de hidruros, permite cuantificar por Absorción Atómica a 253,7 nm de longitud de onda. Teniendo en cuenta lo anterior, se realizó la estandarización y validación del método analítico para determinar mercurio en aguas y sedimentos empleando la EAA-VF.

## II. METODOLOGÍA

### A. Instrumentación y reactivos

Un Espectrómetro de Absorción Atómica (EAA) Thermo Scientific iCE 3000 con su respectiva lámpara de cátodo hueco de mercurio de 253,7 nm fue empleado, el generador de hidruros VP100, un patrón de mercurio de 1000 mg/L de marca Panreac, agua desionizada con una conductividad inferior a 2  $\mu S/cm$ , ácido nítrico grado analítico marca Merck, permanganato de potasio grado analítico marca Merck, peroxidisulfato de potasio grado analítico marca Merck, cloruro de hidroxilamina grado analítico marca Merck, borohidruro de sodio grado analítico marca Merck. Se empleó el programa SOLAAR en el equipo de EAA y el tratamiento de los datos se hizo empleando el SPSS 22,0.

### B. Elaboración de Curvas de Calibración.

Partiendo de la solución de 1000 mg/L de mercurio se prepararon soluciones de 100  $\mu g/L$  con el propósito de obtener curvas de calibración en un rango lineal entre 1 y 12  $\mu g/L$  para la determinación de mercurio, graficando absorbancia versus concentración para establecer su coeficiente de correlación.

### C. Validación del Método.

Se realizó construyendo curvas de calibración en el rango de 1- a 12  $\mu g/L$ , a las cuales se les realizó una digestión con ácido previo al análisis de mercurio [9][8]. Para la confiabilidad de los resultados se aplicó un tratamiento estadístico mediante el software estadístico SPSS (Versión 22,0).

### D. Linealidad Instrumental.

Se evaluaron 7 niveles de concentración durante 7 días diferentes. Se prepararon 7 curvas de calibración entre 1 y 12  $\mu g/L$  durante los 7 días, una curva de calibración por día. Las pruebas estadísticas permitieron corroborar la linealidad de la curva de calibración elaborada [9].

### E. Evaluación de la precisión.

Se evaluaron la repetibilidad (mediciones de Hg el mismo día) y la precisión intermedia (mediciones de Hg en días diferentes). Se calculó el coeficiente de variación en términos de porcentaje (%CV) por nivel de concentración entre 1 y 12 µg/L para determinar la repetibilidad y la precisión intermedia [9].

### F. Evaluación de la sensibilidad.

Se construyeron 3 curvas de calibración, se calcularon mediante el método de mínimos cuadrados las ecuaciones de las líneas de tendencia en cada curva, obteniendo de esta forma los interceptos y las pendientes para cada una de las tres curvas de calibración, con estos datos se determinó la desviación estándar de los interceptos ( $S_{\text{interceptos}}$ ) y el promedio de las pendientes ( $m_{\text{prom}}$ ). Finalmente se aplicaron las (1) y (2) para establecer teóricamente el valor para los límites de cuantificación (LOQ) y detección (LOD).

$$LOQ = \frac{10S_b}{m_{\text{promedio}}} \quad (1)$$

$$LOD = \frac{3 S_b}{m_{\text{promedio}}} \quad (2)$$

### G. Validación de la Metodología.

De acuerdo con el método 1311 TCLP [7,10] y el PGC de validación en residuos desarrollado en el laboratorio de la CRC, se utilizaron muestras de aguas y de sedimentos provenientes de sitios afectados por la minería aurífera ejercida en el Departamento del Cauca. Se tomaron muestras en: Pozo profundo, Brisas del Pacífico, municipio de Guapi (Muestra líquida 1, ML1), Entrada PTAR Los Noguera, municipio de Morales (Muestra líquida 2, ML2), Río San Bingo, municipio de Mercaderes (Sedimento 1, MS1), Vereda La Martha, municipio de Rosas (Sedimento 2, MS2). El análisis de las muestras reales y certificadas se realizó por triplicado durante siete días diferentes. Se realizó la corrección en el contenido del metal obtenido para cada muestra teniendo en cuenta el porcentaje de recuperación (%R) del método.

### H. Pretratamiento de muestras para la determinación de mercurio.

Se tomó una alícuota de 100 mL de muestra en estado líquido o del lixiviado, se agregaron 5 mL de  $H_2SO_4$  concentrado, 2,5 mL de  $HNO_3$  y 15 mL de  $KMnO_4$  al 5%, se sometió a baño maría a  $92 \pm 4^\circ C$  durante 15 minutos, luego se agregaron 8 mL de peroxodisulfato de potasio ( $K_2S_2O_8$ ) al 5% y se calentó en el baño maría durante dos horas más. Una vez terminado el proceso de digestión y justo antes de comenzar el análisis por espectroscopía de absorción atómica por vapor frío, se le agregó una solución de cloruro de hidroxilamina al 5% para eliminar el exceso de permanganato de potasio y garantizar la reducción

del mercurio de  $Hg^{2+}$  a  $Hg^{1+}$ , luego con el boro hidruro de sodio se redujo el mercurio a  $Hg^0$  para obtenerlo como un vapor frío [11,12].

### I. Dopaje de las muestras.

Para las matrices líquidas y los lixiviados obtenidos de los sedimentos por la metodología TCLP, se realizó el procedimiento de digestión para determinar metales (mercurio) en las muestras, de acuerdo con la metodología propuesta por el Standard Methods (Método 1311, USEPA) [13]. Para la validación se determinó la cantidad de mercurio presente en lixiviados obtenidos de dos muestras de sedimentos y de aguas, usando la metodología TCLP y se realizaron adiciones o dopajes buscando evaluar el rango de trabajo.

### J. Análisis de muestras líquidas

Para la muestra líquida 1 o ML1 como la concentración fue menor que el límite de cuantificación se realizaron dos dopajes, una para un rango bajo de 2 µg/L y la otra adición para un rango alto de 10 µg/L respectivamente, la muestra líquida 2 o ML2 al presentar 5,6 µg/L de mercurio se le hizo una adición de 2 µg/L. La codificación de estándares y muestras para la validación de determinación de Hg fue: STDB (Estándar de rango bajo; 2 µg/L), STDA (Estándar de rango alto; 10 µg/L), ML1 (Muestra líquida 1; <1 µg/L), ML1AD1 (Muestra Líquida 1 Adición 1; 4,0 µg/L), ML1AD2 (Muestra Líquida 1 adición 2; 8,0 µg/L), ML2 (Muestra Líquida 2; 5,6 µg/L), ML2AD1 (Muestra Líquida 2 adición 1; 7,6 µg/L), STDCh (Estándar de chequeo; 6,0 µg/L).

### K. Análisis de muestras sólidas

Se realizaron adiciones tanto a la muestra sólida seca como al lixiviado obtenido después de aplicar la metodología TCLP. Se determinaron 6,8 µg/L en el lixiviado de la muestra sólida 2 o LMS2 donde se adicionaron 2 µg/L, en la muestra sólida 1 o MS1, la concentración de mercurio en el lixiviado era menor al límite de cuantificación por la cual se dopó tanto la muestra sólida como el lixiviado a 10 µg/L, también se trabajó con dos estándares de concentraciones conocidas y el estándar de chequeo de 6 µg/L preparados dentro del laboratorio ambiental STDB, STDBA y STDCh rango bajo, rango alto y estándar de chequeo respectivamente. Para los residuos sólidos se aplicaron dos fluidos de extracción como lo indica la metodología TCLP de la EPA [10,14], para muestras con un pH inferior a 5 se utilizó el fluido de extracción No. 1 y para muestras con un pH superior a 5 se utilizó el fluido de extracción No.2, en este caso, la muestra sólida 1 presentó un pH < 5 por lo tanto se trató con fluido de extracción No. 1 y la muestra sólida 2 presentó pH > 5 por lo cual fue tratada con el fluido de extracción No 2. La codificación de estándares y muestras para la validación de determinación de Hg fue: STDB (Estándar de rango bajo; 2,0

$\mu\text{g/L}$ ), STDA (Estándar de rango alto;  $10 \mu\text{g/L}$ ), STDCh (Estándar de chequeo;  $6,0 \mu\text{g/L}$ ), MS1 (Muestra sólida 1; ---), LMS1 (Lixiviado MS1;  $< 1,0 \mu\text{g/L}$ ), MSIAD1 (Muestra sólida 1 adición 1;  $10,0 \mu\text{g/L}$ ), LMS1AD1 (Lixiviado MS1 Adición 1;  $10,0 \mu\text{g/L}$ ), MS2 (Muestra Sólida 2; ----), LMS2 (Lixiviado MS2;  $6,8 \mu\text{g/L}$ ), LMS2AD1 (Lixiviado MS2 Adición 1;  $8,8 \mu\text{g/L}$ ). Para realizar el proceso de validación, se trabajó con material de referencia certificado obtenido comercialmente ante el IDEAM. Se realizaron las pruebas de desempeño con muestras certificadas para lograr acreditación del laboratorio de calidad ambiental de la C.R.C-Popayán-Cauca.

#### L. Determinación de la incertidumbre

Para el cálculo de la incertidumbre, inicialmente se tuvo en cuenta que el material volumétrico empleado para la estandarización de la metodología analítica fue clase A marca SCHOTT DURAN el cual ya se encontraba calibrado, siendo considerado una fuente de incertidumbre mínima por lo cual no se tuvo en cuenta para el cálculo de incertidumbre global del método analítico.

Se determinaron las fuentes de incertidumbre de los dopajes de rango bajo y alto. Se calcularon las fuentes aleatorias encontrando el valor de la media ( $X_{prom}$ ), la desviación estándar ( $S$ ) y la desviación estándar relativa ( $RSD$ ) de cada grupo de datos para calcular la desviación estándar relativa ( $RSDt$ ) del conjunto de datos. Las fuentes sistemáticas en la incertidumbre del método con los porcentajes de recuperación de la concentración baja, media y alta fueron calculadas con el promedio de los recuperados ( $R_p$ ) y su desviación estándar ( $S_{Rp}$ ), y así calcular la incertidumbre en la recuperación promedio ( $\mu_{Rp}$ ). Empleando la prueba t, se evaluó si el factor de recobro era significativamente diferente de 1 para un nivel de confianza del 95 % y n-1 grados de libertad. Como hipótesis nula,  $H_0$ , se plantea: "el factor de recobro es significativamente diferente de 1", para esto se calcula el  $It_{expI}$  y se compara con el  $It_{critI}$ , siendo que, si  $|t_{exp}| > |t_{crit}|$  se debe rechazar  $H_0$ , pero si  $|t_{exp}| < |t_{crit}|$  se acepta, indicando diferencia estadísticamente significativa entre el valor obtenido de recuperación y el factor de recobro.

### III. RESULTADOS

#### A. Linealidad Instrumental.

Se evaluaron 7 curvas de calibración durante 7 días diferentes para un rango de concentraciones para mercurio de  $1,0$  a  $12,0 \mu\text{g/L}$ . En la Fig. 1 se presenta la relación lineal entre concentración de Hg ( $\mu\text{g/L}$ ) con respecto a la absorbancia, donde se observa la relación lineal y su ajuste al método de mínimos cuadrados para generar una ecuación lineal.

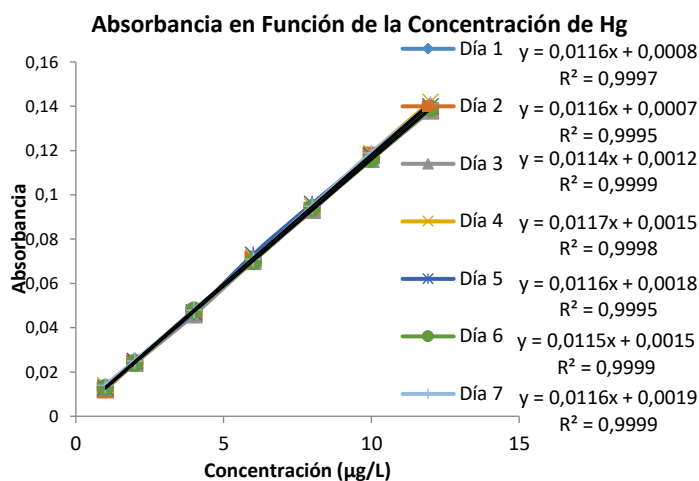


Fig. 1. Linealidad y reproducibilidad de las curvas de calibración para Hg.

Considerando que el número de datos es menor a 50, se realizó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para determinar si se aplican pruebas paramétricas o no paramétricas, de acuerdo a si el valor de significancia ( $p$ ) de la prueba es superior o no a 0,05. Se planteó como hipótesis nula,  $H_0$ : "el conjunto de datos obtenidos provienen de una población normal" y como hipótesis alternativa,  $H_a$ : "Los datos obtenidos no provienen de una población normal". Los datos de la prueba de Shapiro-Wilk indicaron valores de significancia  $p > 0,05$  entre 0,07 y 0,591 para todos los niveles de concentración, indicando que se ajustan a la normalidad, por lo tanto, se acepta la hipótesis nula y se aplican pruebas paramétricas de ANOVA con el fin de establecer si existen diferencias significativas en los valores de absorbancia en términos de linealidad instrumental. Se aplicó la prueba ANOVA para conocer la existencia de diferencias significativas entre los valores de absorbancia en función del nivel de concentración. Se planteó como hipótesis nula,  $H_0$ : "No existe diferencia significativa entre los promedios de grupos de datos" y como hipótesis alternativa,  $H_a$ : "Si existe diferencia significativa entre los promedios de grupos de datos". El resultado obtenido indicó que las absorbancias difieren significativamente al presentar un valor de significancia 0,000 ( $p < 0,05$ ) entre cada nivel de concentración rechazándose la hipótesis nula. Para saber entre cuáles niveles de concentración hay diferencia significativa, se aplicó la prueba de Tukey. La prueba de Tukey indicó siete grupos en donde cada absorbancia es significativamente diferente, lo que muestra que la absorbancia de cada nivel de concentración tiene un valor de significancia de 1,000 ( $p > 0,05$ ), es decir, el incremento en el nivel de concentración produce un aumento significativo y proporcional en el valor de la absorbancia, indicando que hay una relación lineal directa entre la absorbancia y la concentración en los niveles de las curvas de calibración para mercurio. Cada uno de los 7 subconjuntos homogéneos está dentro de las medias en que difieren. La prueba de ANOVA para los valores de absorbancia de los diferentes niveles de concentración en función del día, mostró que no existe diferencia significativa entre los valores de absorbancia con un valor de significancia  $p$  de 1,000 ( $p > 0,05$ ) en función del día, y se concluye que la absorbancia de cada

concentración no presenta variación con el tiempo indicando su reproducibilidad. El coeficiente de correlación para las curvas de calibración se evaluó estadísticamente mediante correlación de Pearson teniendo como hipótesis nula  $H_0$ : “No existe correlación significativa entre la abscisa (x) y la ordenada (y)”. Se rechaza la hipótesis nula y se llega a la conclusión que existe correlación significativa entre la concentración y la absorbancia, con una correlación de Pearson de 0,997 [15.16]. Se calculó el coeficiente de variación (CV) en términos de porcentaje por nivel de concentración de mercurio bajo condiciones de repetibilidad y precisión intermedia. Los resultados se presentan en la Tabla I.

TABLA I  
REPETIBILIDAD Y PRECISIÓN INTERMEDIA PARA DETERMINACIÓN DE HG

Nivel	Repetibilidad		Precisión Intermedia	
	Desv. est	% C.V	Desv. est	% C.V
N1	0,0010	7,69	0,0008	6,281
N2	0,0006	2,34	0,0005	2,175
N3	0,0010	2,13	0,0009	1,920
N4	0,0010	1,41	0,0011	1,503
N5	0,0006	0,61	0,0011	1,201
N6	0,0015	1,30	0,0013	1,082
N7	0,0015	1,09	0,0015	1,071

El primer nivel (1,0 µg/L) presenta mayor variabilidad tanto en condiciones repetibilidad como en condiciones de precisión intermedia, sin embargo, el CV en ambos casos es inferior al 8% debido a que los datos de absorbancia a esta concentración son muy bajos, se debe tener en cuenta que el Standard Methods al igual que el laboratorio ambiental de la CRC establecen coeficientes de variación inferiores a 10% [13]. Para los otros niveles no se observa una mayor variabilidad en los resultados obtenidos en cuanto a precisión intermedia y repetibilidad, en ambos casos los CV son inferiores al 3% lo que demuestra la precisión y reproducibilidad del método implementado.

**B. Determinación de Límites Críticos.**

Se calcularon empleando el método de mínimos cuadrados, calculando el promedio de las pendientes ( $m_{prom}$ ) y aplicando las (1) y (2) para establecer teóricamente los valores para el límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ) [9,11], los resultados se muestran en la Tabla II.

TABLA II  
LÍMITE DE DETECCIÓN Y LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN PARA HG

Parámetro	Curva 1	Curva 2	Curva 3	$S_{interc}$	$m_{prom}$	LOD	LOQ
						(µg/L)	(µg/L)
Pendiente	0,0116	0,0117	0,0115		0,0116	0,10	0,35
Intercepto	0,0008	0,0015	0,0015	0,00040415			

El límite de cuantificación LOQ teórico se evaluó de forma experimental preparando 3 réplicas de una solución al nivel de concentración LOQ calculado. Estas soluciones se analizaron de acuerdo a la metodología descrita para el método. Las absorbancias obtenidas para cada solución se promediaron e interpolaron en una curva de calibración preparada y analizada el mismo día, con estos resultados se halló la precisión y la exactitud al LOQ encontrándose un porcentaje de recuperación de 108,57% con un CV de 5,81 para una concentración de 0,35 µg/L de Hg. Un LOD de 0,10 µg/L fue determinado. Un método desarrollado para determinar mercurio en suelos y aguas afectados por procesos de minería de oro presentó un LOD de 1 µg/L [17].

**C. Precisión y exactitud de la metodología analítica implementada.**

Los coeficientes de variación (%CV) obtenidos fueron menores del 5%, demostrando alta reproducibilidad y se demuestra que a medida que la concentración de analito disminuye, mayor es la variación en el coeficiente de variación. Los resultados se presentan en la Tabla III. También se puede observar que los porcentajes de recuperación son apropiados y se encuentran dentro de un rango adecuado (95 – 105%).

TABLA III  
PRECISIÓN Y EXACTITUD PARA LA DETERMINACIÓN DE HG

Nivel	Precisión intermedia		
	Desv. est	%C.V	%R
N1	0,00055	4,722	97,26
N2	0,00055	2,245	101,62
N3	0,00182	3,892	98,25
N4	0,00114	1,597	100,83
N5	0,00167	1,769	100,40
N6	0,00089	0,755	100,67
N7	0,00152	1,086	98,99

La exactitud y precisión se determinaron aplicando la prueba estadística de homogeneidad de varianzas (Estadístico de Levene), planteando la hipótesis nula: “El nivel de concentración no afecta la variabilidad en los porcentajes de recuperación”. Se obtuvo que la significancia estadística basándose en la media para el estadístico de Levene fue de 0,039 siendo menor a 0,05, por lo que se concluye que el nivel de concentración sí afecta la variabilidad en los %R obtenidos. Es decir, para cada nivel de concentración se debe tener en cuenta su porcentaje de recuperación, siendo lógico puesto que a concentraciones bajas hay mayor variación en los volúmenes tomados para la preparación de las curvas [18,19]. Por otro lado, la significancia estadística, basándose en la mediana para el estadístico de Levene es mayor a 0,05 (Sig = 0,211), por lo que la prueba estadística es no significativa y por lo tanto se acepta la hipótesis nula, concluyendo que el nivel de concentración no afecta la variabilidad en los % R obtenidos. Los %R obtenidos con base a la mediana y el %R promedio fueron aceptables, encontrándose dentro del intervalo normal

del 95% al 105%, de igual forma los %CV fueron inferiores al 5%. Recuperaciones del 98% han sido alcanzadas en la determinación de mercurio en muestras de sedimentos tomados del río San Jorge en la zona de la Mojana en el nororiente colombiano, presentando CV menores al 5% [20,21].

*D. Validación del método para las muestras líquidas y sólidas.*

Los resultados para muestras líquidas corroboran que los métodos implementados generan resultados exactos, con porcentajes de recuperación entre el 95 – 105%. El error relativo es bajo, < a 2 %. Los bajos coeficientes de variación en términos de precisión intermedia, cumplen con el criterio de aceptación de Horwitz (%CV < %CV Horwitz) [17,22], demostrando que no existe variación entre los ensayos, confirmando las adiciones efectuadas. Además, se comprueba que a concentraciones bajas el coeficiente de Horwitz tiende a ser mayor, dado que se requieren volúmenes muy pequeños para la preparación. Para muestras sólidas observamos que los resultados tienen un coeficiente variación inferior al 5%, lo que nos indica que son resultados confiables y que a su vez tienen un porcentaje de recuperación entre los intervalos de confianza globales del método, establecido en la validación de la técnica. En la Tabla IV se presentan los resultados del análisis de muestras líquidas y sólidas. Muestras líquidas ML1 y lixiviados de muestras sólidas LMS1, las cuales presentaron concentraciones de mercurio por debajo de 1µg/L, fueron empleadas para evaluar la robustez del método, teniendo en cuenta el efecto de matriz. Las muestras fueron dopadas con concentraciones de mercurio de 4 y 10 µg/L respectivamente y se determinaron coeficientes de variación por debajo del 5% (4,50% y 2,16%) para los dos tipos de muestras, demostrando la robustez del método.

TABLA IV

RESULTADOS ANÁLISIS DE MUESTRAS LÍQUIDAS Y SÓLIDAS

Muestra	Promedio Hg (µg/L)	S	%CV	Exactitud (% R)
<b>Muestras líquidas</b>				
STDB	2,11	0,062	2,94	105,5
STDA	10,02	0,266	2,69	99,1
ML1AD1	4,10	0,185	4,50	102,5
ML1AD2	8,09	0,336	4,16	101,13
ML2	5,52	0,258	4,67	100,36
ML2AD1(+2)	7,47	0,214	2,86	98,68
STDCh	6,14	0,191	3,11	102,33
<b>Muestras sólidas</b>				
LMS2	6,80	0,10	1,26	NA
LMS1AD1	10,14	0,22	2,16	101,40
LMS2AD1	8,78	0,15	1,74	NA
MS1AD1	9,87	0,18	1,85	98,7

*E. Pruebas de desempeño para análisis de mercurio con muestras certificadas.*

Para la acreditación del laboratorio de calidad ambiental de la C.R.C en Popayán-Colombia se analizaron muestras certificadas suministradas por el IDEAM. Las muestras certificadas tanto de agua como de sedimento presentaron

concentraciones desconocidas de mercurio. Se determinó una concentración promedio de Hg en la muestra líquida (codificación interna 0013) de 8,64 µg/L (Día 1: 8,83 µg/L; Día 2: 8,45 µg/L; Día 3: 8,60 µg/L) y en la muestra de sedimento (codificación interna 0012) de 4,62 µg/Kg (Día 1: 4,68 µg/Kg; Día 2: 4,87 µg/Kg; Día 3: 4,30 µg/Kg). El resultado de la prueba de desempeño emitido por el IDEAM fue confidencial y se manejó de forma interna con el laboratorio de la C.R.C.

*F. Estimación de la incertidumbre en la determinación de Hg mediante fuentes globales.*

Se determinó la incertidumbre a partir de estándares preparados internamente y muestras de residuos líquidos y sedimentos con concentraciones cercanas al nivel bajo, intermedio y alto de la curva de calibración. En el cálculo de incertidumbre para la determinación de Hg en muestras líquidas (ML1AD1), muestras sólidas (MS1AD1) y lixiviado de muestras sólidas (LMS2AD1) se obtuvieron valores de t experimental (2,044; 0,642; 0,158) y valores de t crítico (2,16; 2,16; 2,16), precisión (fuentes aleatorias) (0,0302; 0,0206; 0,0159), sesgo (fuentes sistemáticas) (0,0107; 0,0078; 0,0130), incertidumbre combinada total ( $\mu_{total}$ ) (0,032; 0,0220; 0,0205) y una incertidumbre expandida del método (U) de ±0,064, ±0,0440 y ±0,0410 respectivamente. En la Fig 2 se observan las fuentes de incertidumbres para muestras líquidas y sólidas. Para el cálculo de la incertidumbre combinada empleando la metodología de fuentes globales se tuvieron en cuenta los estándares preparados internamente, las muestras de residuos líquidos y sólidos con concentraciones cercanas a nivel bajo, intermedio y alto de la curva de calibración. Para calcular las fuentes de incertidumbre se determinaron las desviaciones estándar de las mediciones realizadas, teniendo en cuenta las fuentes sistemáticas de la incertidumbre del método con los porcentajes de recuperación baja, media y alta y finalmente aplicando la prueba t se determinaron las diferencias significativas para el nivel evaluado a un 95% de confianza, calculando la incertidumbre expandida, observando el efecto por las limitaciones del instrumento para el análisis de muestras y la poca influencia de fuentes sistemáticas, confirmando que el valor verdadero de concentración de una muestra se encuentra dentro del intervalo del valor obtenido y su respectiva incertidumbre.

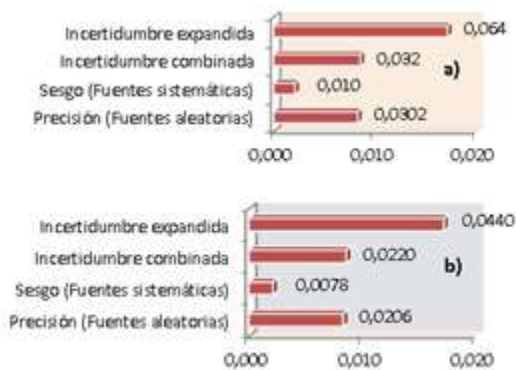


Fig. 2. Fuentes de incertidumbre para muestras líquidas a) y sólidas b).

Se observa que la principal fuente de incertidumbre en la medida del análisis de las muestras, es por fuentes aleatorias las cuales deben estar asociadas a la sensibilidad del instrumento de medida y otras variables inevitables que están fuera de control del experimentador, mientras que las fuentes sistemáticas que pueden ser las del equipo como pequeñas desviaciones con respecto a la calibración, desgaste de la lámpara o las del operario en la preparación de patrones y muestras no presentan un efecto mayor en la medida. Con los datos de las incertidumbres para las muestras de residuos, se observa que hay aproximadamente un 95% de probabilidad de que el valor verdadero de la concentración de mercurio en una muestra de residuo, se encuentre dentro del intervalo dado por el valor obtenido al analizar la muestra y su respectiva incertidumbre.

#### IV. CONCLUSIONES

Se realizó la implementación y estandarización de la metodología 1311 (TCLP) de la EPA US para la determinación de Hg en aguas y sedimentos por EAA-GH. Se implementó el proceso de digestión según el SM para las diferentes muestras por TCLP. Los resultados de las muestras estuvieron dentro de los intervalos del porcentaje de recuperación del método global con %CV dentro del rango permitido por la EPA (<20%). El método implementado para determinación de mercurio en aguas y sedimentos demostró ser robusto, sensible, preciso, lineal y reproducible. Los resultados obtenidos permiten la determinación de Hg en aguas y sedimentos en el laboratorio ambiental de la C.R.C de Popayán-Colombia.

#### V. AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al laboratorio ambiental de la Corporación Autónoma Regional del Cauca (CRC), al grupo de investigación AGROQUÍMICA y al Departamento de Química de la Universidad del Cauca por su colaboración en el desarrollo de este trabajo.

#### REFERENCIAS

- [1]. F. Khan, S. Momtaz and M. Abdollahi, "The relationship between mercury exposure and epigenetic alterations regarding human health, risk assessment and diagnostic strategies", *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, vol. 52, p.p. 37-47, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2018.11.006>.
- [2]. O. García y J. Molina, 2010. Introducción de tecnologías más limpias en la minería y la extracción del oro artesanales, en el Nordeste Antioqueño y Bajo Cauca Antioqueño, Colombia. En: *Técnicas aplicadas a la caracterización y aprovechamiento de recursos geológicos mineros*. Ed. E. Berrezueta y M. J. Domínguez. Red Minera XXI. CYTED., 2010. Disponible en: [http://www.sedpgym.es/descargas/libros\\_actas/POTOSI\\_2011/17\\_OSE\\_AS\\_271-280.pdf](http://www.sedpgym.es/descargas/libros_actas/POTOSI_2011/17_OSE_AS_271-280.pdf) Consultado: 26-03-2020.
- [3]. O. Gyamfi, P.B. Sorenson, G. Darko, E. Ansah, J.L. Bak, "Human health risk assessment of exposure to indoor mercury vapour in a Ghanaian artisanal small-scale gold mining community", *Chemosphere*, vol. 241, 125014, 2020, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125014>.
- [4]. J. Gallo, E. Pérez, R. Figueroa, A. Figueroa, "Water quality of streams associated with artisanal gold mining; Suárez, Department of Cauca, Colombia", *Heliyon*, vol. 7, 6, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07047>.
- [5]. US Environmental Protection Agency, 1996. Toxicity characteristic leaching procedure (TCLP): method 1311. In: *Test Methods for Evaluating Solid Waste, SW-846, 3rd Edition. (Revision III, December 1996)*.
- [6]. CENAM. *Métodos Analíticos Adecuados a su Propósito. Guía de Laboratorio para la Validación de Métodos y Temas Relacionados* (J. Guardado; F. Mercader, Trads.). 2<sup>da</sup> Ed. México. 2005. (Trabajo original publicado en 1998).
- [7]. US Environmental Protection Agency, 1996. Toxicity characteristic leaching procedure (TCLP): method 1311. In: *Test Methods for Evaluating Solid Waste, SW-846, 3rd Edition. (Revision III, December 1996)*.
- [8]. US Environmental Protection Agency. Method 7470A – mercury in liquid waste (manual cold-vapor technique), 6 p, September 1994.
- [9]. J. Miller y J. Miller, *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*. 4<sup>a</sup> Edición. Editorial Prentice Hall. España. 2000. 278p.
- [10]. S.S. Sorini and L.P. Jackson "Evaluation of the toxicity characteristic leaching procedure (TCLP) on utility wastes", *Nuclear and Chemical Waste Management*, vol. 8, p.p. 217–223, 1988. DOI: [https://doi.org/10.1016/0191-815X\(88\)90029-0](https://doi.org/10.1016/0191-815X(88)90029-0).
- [11]. SKOOG, D. *Principios De Análisis Instrumental*. 5<sup>a</sup> Edición. Editorial Mcgraw Hill. España. 2001.
- [12]. Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales IDEAM. "Determinación de Metales Pseudototales en Suelos y Bioabonos y Metales Totales en Forrajes, por Espectrofotometría Atómica - Llama Directa, Espectrofotometría Atómica – Horno de Grafito y Emisión por Plasma – (Digestión Abierta a Reflujo)". 31/01/2008.
- [13]. A.D. Eaton. *Standard methods for the examination of water & wastewater*. Centennial edition. 21<sup>st</sup> Edition. 2005. SM 3030 E, SM 3112 B, SM 3111D.
- [14]. J. Hansen, C. Reed, M. Scudese, L. Lazarus, F. Park, Technical Assistance Document for Complying with the TC Rule and Implementing the Toxicity Characteristic Leaching Procedure (TCLP), Report No. EPA-902-B-94-001, United States Environmental Protection Agency, 1994.
- [15]. T. Jong and D.L. Parry, Evaluation of the stability of arsenic immobilized by microbial sulfate reduction using TCLP extractions and long-term leaching techniques. *Environmental Analytical Chemistry Unit, School of Science and Primary Industries, Faculty of Education, Australia*. 14 December 2004.
- [16]. Organización mundial de la salud. *Guías para la calidad del agua potable*, Vol. 1: Recomendaciones. 3<sup>ra</sup> Ed. ISBN 92 4 154696 4.
- [17]. W. Horwitz and R.J. Albert, The Horwitz Ratio (HorRat): A Useful Index of Method Performance with Respect to Precision. *Assoc. Off. Anal. Chem.*, Vol. 89, No. 4, pp. 1095-1109, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1093/jaoac/89.4.1095>.
- [18]. [18] J. Mantey, K.B. Nyarko, F. Owusu-Nimo, K.A. Awua, C.K. Bempah, R.K. Amankwah, W.E. Akatu, E. Appiah-Effah, "Mercury contamination of soil and water media from different illegal artisanal small-scale gold mining operations (galamsey)", *Heliyon*, vol. 6, 6, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04312>.
- [19]. C.E. Halim, R. Amala, D. Beydoun, J.A. Scott, G. Low. Evaluating the applicability of a modified toxicity characteristic leaching procedure (TCLP) for the classification of cementitious wastes containing lead and cadmium. *Centre for Particle and Catalyst Technologies, School of Chemical Engineering and Industrial Chemistry, Australia* 11 July 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0304-3894\(03\)00245-0](https://doi.org/10.1016/S0304-3894(03)00245-0).
- [20]. J. Marrugo-Negrete, J. Pinedo-Hernández, S. Díez, "Geochemistry of mercury in tropical swamps impacted by gold mining", *Chemosphere*, vol. 134, p.p. 44-51, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.03.012>.

- [21]. L. Mancini, R. Miniero, E. Beccaloni, K. di Domenico, I. Lacchetti, C. Puccinelli, M. R. Cicero, F. Scaini, M. Carere, "Mercury (Hg) and methylmercury (MeHg) in sediment and biota: A case study in a lagoon in Central Italy", *Marine Pollution Bulletin*, vol. 175, 2022, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.113308>.
- [22]. P. Sueli, N. Silva, W. Moura, C. Carvalhinho. "Quantification and speciation of mercury in streams and rivers sediment samples from Paracatu, MG, Brazil, using a direct mercury analyzer®", *Microchemical Journal*, Vol. 140, 2018, Pp. 199-206. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.04.006>.



**Edier Humberto Pérez:** Químico, Magister y Doctor en Ciencias Químicas de la Universidad del Valle. Profesor titular de la Universidad del Cauca, adscrito al Departamento de Química. Implementó y desarrolló el área de química analítica aplicada a estudios ambientales y creó el grupo de investigación en Química Ambiental, vigente en esta institución universitaria. Cuenta con publicaciones a nivel nacional e internacional. Miembro activo de la Sociedad Colombiana de Ciencias del Suelo y desde 2004 editor de la revista Suelos Ecuatoriales. Asimismo, es profesor del Doctorado en Ciencias Ambientales y director del grupo de Investigación Agroquímica de la Universidad del Cauca.

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4169-0082>



**Rodrigo Andrés Sarria Villa:** Investigador del Grupo de Investigación en Química Analítica Ambiental y el grupo Agroquímica de la Universidad del Cauca y Profesor Ocasional tiempo completo del Departamento de Química de la Universidad del Cauca, Popayán, Colombia. Químico de la Universidad del Cauca, Popayán, Colombia. Maestría en Ciencias Químicas de la Universidad del Valle, Cali, Colombia y Doctor en Ciencias Químicas de la Universidad del Valle, Cali, Colombia, cuenta con 6 años de experiencia como docente, 10 años de experiencia como investigador y es miembro de la sociedad ambiental SETAC. Sus áreas de interés son: Química ambiental, toxicología y recursos renovables.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1295-7865>.



**Fabian Andrés Muñoz Perdomo:** Químico recientemente egresado de la Universidad del Cauca. Integrante del grupo Agroquímica. Le interesan temas de investigación en el campo de la agroquímica y química ambiental.

ORCID: N.A