

Desarrollo de una metodología para la determinación de mercurio en plantas mediante un sistema de análisis en flujo continuo y diseño experimental multivariado.

Development of a methodology for the determination of mercury in plants using a continuous flow analysis system and multivariate experimental design.

Méndez, Fernando^{1*}; Rondón, Carlos¹; Ayala, Carlos¹; John, Valery²; Miliani, Luisana¹; Albarrán, Edgar¹; Salcedo, Mariana¹; Ruiz, Juan¹; Yaguare, Ana¹.

¹ Laboratorio de Espectroscopia Molecular, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes, Mérida 5101, Venezuela.

² Laboratorio de Química Analítica, Centro de Química, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Miranda 1204, Venezuela

* mendezpfj@gmail.com

Resumen

Es fundamental identificar y medir con precisión y exactitud el mercurio en las plantas para valorar el efecto de la contaminación y crear planes de mitigación. Por ello, se desarrolló una metodología optimizada con un modelo de Box-Behnken en dos bloques. El primer bloque corresponde a la optimización de la digestión de la muestra de planta, y el segundo bloque a la optimización del sistema para la medición de la muestra. Se utilizó el método de generación de vapor frío y detección por espectroscopia de absorción atómica (CV-AAS). Las características analíticas incluyeron un límite de detección de 0,15 µg/L, un límite de cuantificación de 0,5 µg/L y un rango lineal de 0,5 a 8 µg/L. En cuanto a los estudios de precisión, la desviación estándar relativa se encuentra entre 1 y 2 %. Por otra parte, en los estudios de exactitud, el error porcentual relativo se encuentra entre 3 y 4 %. Se examinaron tres áreas entre la mina inactiva de El Arenal y Puente Roto, encontrándose concentraciones de mercurio que oscilaban entre 440 µg/Kg y 1542 µg/Kg.

Palabras clave: diseño experimental, mercurio, plantas, análisis multivariado.

Abstract

It is critical to accurately and precisely identify and measure mercury in plants to assess the effect of contamination and create mitigation plans. Therefore, an optimized methodology was developed with a Box-Behnken model in two blocks. The first block corresponds to the optimization of the digestion of the plant sample, and the second block to the optimization of the system for sample measurement. The cold vapor generation and detection by atomic absorption spectroscopy (CV-AAS) method was used. The analytical characteristics included a limit of detection of 0.15 µg/L, a limit of quantification of 0.5 µg/L and a linear range of 0.5 to 8 µg/L. For precision studies, the relative standard deviation is between 1 and 2 %. On the other hand, in the accuracy studies, the relative percentage error is between 3 and 4 %. Three areas between the inactive mine of El Arenal and Puente Roto were examined and mercury concentrations ranging from 440 µg/Kg to 1542 µg/Kg were found.

Keywords: experimental design, mercury, plants, multivariate analysis.

1 Introducción

El mercurio es un contaminante ambiental de gran preocupación debido a su toxicidad y persistencia en el medio ambiente. Este metal pesado no solo es altamente tóxico

para los seres humanos, sino que también representa una amenaza significativa para la flora y fauna. La contaminación por mercurio puede provenir de diversas fuentes, incluyendo actividades industriales, minería y la quema de combustibles fósiles, lo que resulta en su liberación al aire, agua y suelo. Una vez en el medio ambiente, el mercurio puede transformarse en metilmercurio, una forma aún más

tóxica que se bioacumula en la cadena alimentaria, afectando gravemente a los ecosistemas (Rosique, 2016).

La detección y cuantificación precisa de mercurio en plantas es crucial para evaluar el impacto de la contaminación y desarrollar estrategias de mitigación. Las plantas pueden absorber mercurio del suelo y del agua, actuando como indicadores biológicos de la contaminación ambiental según lo explica Salvador y colaboradores (2005). En este contexto, el desarrollo de una metodología robusta y confiable para la detección de mercurio en plantas se vuelve esencial. Una metodología precisa no solo permite la identificación de niveles de contaminación, sino que también proporciona datos fundamentales para la implementación de medidas correctivas y preventivas (Martínez, 2009).

Este estudio se centra en la creación de una metodología que combina un diseño experimental riguroso con técnicas de análisis multivariado. El diseño experimental permite controlar y evaluar las variables que afectan la absorción y acumulación de mercurio en las plantas según explican Valenzuela y Lucumi (2017), mientras que el análisis multivariado facilita la interpretación de datos complejos y la identificación de patrones significativos (Dueñas, 2023). Estas técnicas permiten una comprensión más profunda de los mecanismos de absorción y acumulación de mercurio, así como de los factores que influyen en estos procesos (Streets, et al., 2011).

2 Procedimiento Experimental

En este trabajo se utilizó para tomar las medidas de absorbancia un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin – Elmer modelo 3100 Norwalk Ct USA, controlado mediante un programa Perkin – Elmer, modelo “3100 Enhanced Data Sistem”.

Como unidad de atomización se utilizó una celda de cuarzo en forma de “T”, y como fuente de radiación una lámpara de cátodo hueco de mercurio marca Perkin Elmer. La longitud de onda empleada fue de 253,7 nm para el elemento en estudio (Hg), con un ancho de rendija para todas las medidas de 0,7 nm. Los experimentos fueron realizados utilizando un sistema de flujo continuo, utilizando un separador de fases de 7 cm de longitud x 2 cm de d.i., con 22 mL de capacidad, fabricado en el laboratorio.

Todas las soluciones fueron preparadas con reactivos de la más alta pureza disponible y de grado analítico. Se utilizó ácido clorhídrico de Riedel-de Haen con un 37 % de pureza, borohidruro de sodio de Sigma con un 98 % de pureza, hidróxido de sodio de Riedel-de Haen, ácido nítrico Brian Chemical con un 70 % de pureza. El agua empleada para la preparación de soluciones y lavado de material de laboratorio, fue doblemente destilada y desionizada con resistividad específica de 18 MΩ.cm, obtenida en un sistema Millipore

Milli-Q plus. Se preparó una solución estándar de 1000 mg/L de Hg²⁺ a partir de óxido de mercurio (II) HgO marca Merck con un porcentaje de 97% de pureza.

En la planificación del muestreo se consideraron (02) dos minas inactivas denominadas: El Arenal y Puente Roto. La recolección de las plantas (cinco muestras de cada material vegetal) se llevó a cabo de forma aleatoria, bordeando las lagunas formadas por el proceso de la minería.

No obstante, se establecieron tres zonas de trabajo; primer segmento de 0 - 10 mts (S1), un segundo segmento de 10 – 20 mts (S2) y un tercer segmento de 20 – 30 mts (S3) hasta el borde del bosque.

En el caso de la mina El Arenal, para S1 se encontraron las siguientes especies: *Cyperus luzulae* L., *Calea* sp, *Emilia* sp, *Cyperus* sp, *Vismia* sp (hoja pequeña), *Cecropia peltata* L. Y en el S2, se ubicaron las siguientes especies: *Pentaclethra macroloba* (Willd.) Kuntze, *Vismia* sp (hoja pequeña), *Calea* sp, *Piper* sp, *Cecropia peltata* L, *Pityrogramma calomelanos* (L.) Link. Finalmente en S3, se ubicaron las siguientes especies: *Vismia* sp (hoja pequeña), *Calea* sp, *Piper* sp, *Cecropia peltata* L, *Pityrogramma calomelanos* (L.) Link.

Con respecto, de la mina inactiva Puente Roto se recolectaron las plantas de la misma forma donde para el caso S1, se encontraron las especies: *Pterocarpus* sp, *Scrophulariaceae*, *Cyperus* sp (grande), *Lalea* sp, *Ludwigia* L, *Asteraceae* Giseke, *Cyperus luzulae* L., *Calea* sp, *Ludwigia* L (fruto globozo).

De la misma forma para el caso de S2, se localizaron las siguientes especies: *Pterocarpus* sp, *Rubiaceae* Juss, *Cyperus* sp, *Eclipto* sp, *Perama* sp, *Sahovajecea*, *Vismia* sp (hoja pequeña), *Lasmiaceae* y *Asteraceae*. S3, se ubicaron las siguientes especies: *Vismia* sp (hoja pequeña), *Calea* sp, *Piper* sp, *Cecropia peltata* L. Para la determinación de mercurio, las muestras de planta se recolectaron en bolsas de papel para su transporte, estas fueron secadas, trituradas y tamizadas para su posterior análisis.

Los experimentos fueron realizados utilizando el sistema de flujo continuo mostrado en la figura 1, realizados mediante un procedimiento del Laboratorio de Espectroscopia Molecular, utilizando el sistema de flujo continuo (Cristhian, 2003).

Las soluciones de los patrones o la muestra (flujo 6,0 mL/min) se acidifican con HCl 1M y luego esta se combina con el agente reductor NaBH₄ 0,5 % m/v y NaOH 0,25 % m/v, para pasar por los serpentines de mezclado y reacción L1 (5 cm de longitud) y L2 (5 cm de longitud), para la generación de las especies volátiles de mercurio. Luego de esto las especies MeHg y HgO generadas son separadas de la

fase líquida y transportadas con la ayuda del gas de arrastre (Nitrógeno, 150 mL/min) hacia la celda de cuarzo, para luego medir la absorbancia de los átomos del analito.

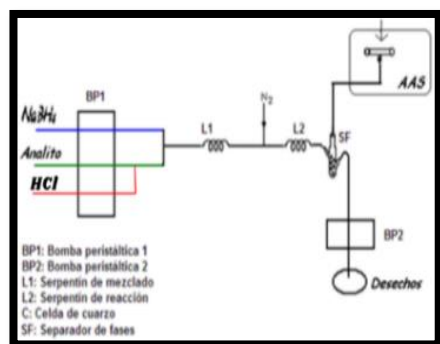


Fig 1. Sistema de Flujo Continuo empleado en los experimentos realizados. Continuous Flow System used in the experiments.

3 Discusión y Resultados

Las optimizaciones se realizaron en un modelo de Box-Behnken en 2 bloques, donde el primer bloque es de la optimización de la digestión de la muestra de planta y el segundo bloque corresponde a la optimización del sistema para la medición de la muestra de plantas.

3.1 Optimización de la digestión de la muestra de planta (Bloque 1).

El método experimental para realizar la digestión de las muestras de planta requiere de la optimización de los parámetros involucrados para lograr realizar las determinaciones con las características analíticas deseadas (Aquino, 2020). En vista de esto, se empleó un diseño experimental multivariado de Box-Behnken por bloques empleando un pool de muestras con las plantas recolectadas en los sitios en estudio.

Las variables involucradas en el proceso de digestión de las muestras de planta son siete: masa de muestra (g), volumen de ácido nítrico empleado (mL), el tiempo de la digestión (min), la temperatura durante la digestión con ácido (°C), el volumen de peróxido de hidrógeno empleado (mL), el tiempo de digestión con el peróxido (min) y la temperatura de la digestión con el peróxido (°C).

Con esto en cuenta, se requiere un diseño factorial de 2^7 , el cual analiza la interacción de todas las variables entre sí y da la mejor combinación posible. Para la construcción del diseño y su evaluación se empleó el software Statgraphics Centurion XVII, de forma que, al realizar los experimentos y la evaluación de sus resultados se obtiene el diagrama de Pareto en la figura 02 el cual resalta las variaciones y correlaciones de los parámetros en forma gráfica.

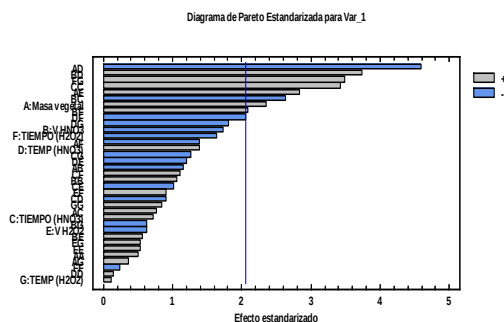


Fig 2. Diagrama de Pareto para la optimización del tratamiento de plantas. Pareto diagram for plant digestion optimization.

En detalle, en la tabla 01 se presenta el análisis de varianza para los resultados con los 7 factores en estudio.

Tabla 1. Análisis de varianza para los resultados de la optimización de la digestión de la planta.

Analysis of variance for plant digestion optimization results.

Fuente	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: masa vegetal	1	0,000298649	5,56	0,0266
B: volumen de HNO ₃ para 1era digestión	1	0,000159824	2,97	0,0970
C: tiempo de 1er digestión con HNO ₃	1	0,0000273342	0,51	0,4824
D: temperatura de 1era digestión con HNO ₃	1	0,000104524	1,94	0,1755
E: volumen de H ₂ O ₂ para 2da digestión	1	0,0000211579	0,39	0,5361
F: tiempo de 2da digestión con H ₂ O ₂	1	0,000145217	2,70	0,1128
G: temperatura de 2da digestión con H ₂ O ₂	1	7,67528E-7	0,01	0,9058
AA	1	0,0000138934	0,26	0,6156
AB	1	0,0000726977	1,35	0,2558
AC	1	0,0000310845	0,58	0,4541
AD	1	0,00113236	21,07	0,0001
AE	1	0,000431572	8,03	0,0090
AF	1	0,000104795	1,95	0,1749
AG	1	0,00000700947	0,13	0,7211
BB	1	0,0000607389	1,13	0,2980
BC	1	0,000371477	6,91	0,0144
BD	1	0,000751523	13,98	0,0010
BE	1	0,0000168246	0,31	0,5808
BF	1	0,000234163	4,36	0,0472
BG	1	0,0000215453	0,40	0,5324
CC	1	0,000631303	11,74	0,0021
CD	1	0,0000436145	0,81	0,3763
CE	1	0,0000549004	1,02	0,3219
CF	1	0,0000661922	1,23	0,2777
CG	1	0,0000860263	1,60	0,2175
DD	1	0,00000114796	0,02	0,8850
DE	1	0,000076801	1,43	0,2432
DF	1	0,000227781	4,24	0,0501
DG	1	0,000176115	3,28	0,0823
EE	1	0,0000152932	0,28	0,5985
EF	1	0,0000441559	0,82	0,3734
EG	1	0,0000157081	0,29	0,5936
FF	1	0,00000298233	0,06	0,8157
FG	1	0,000651007	12,11	0,0019
GG	1	0,0000383816	0,71	0,4061
bloques	1	0,0000511273	0,95	0,3388
Error total	25	0,0000537554		
Total (corr.)	61			

Al analizar los datos presentados en la tabla 1, se hace notar que existen ciertas interacciones significativas entre

las variables como lo son: masa de muestra y temperatura del ácido nítrico, masa de muestra y volumen de peróxido de hidrógeno, volumen de ácido nítrico y tiempo de digestión en ácido nítrico, volumen de ácido nítrico y temperatura del ácido, volumen de ácido nítrico y tiempo de digestión con peróxido, tiempo en peróxido de hidrógeno y la temperatura del peróxido de hidrógeno.

Tomando en cuenta entonces el análisis hecho por el software empleado, los parámetros óptimos para realizar la digestión de las plantas se presentan en la siguiente tabla.

Tabla 2. Parámetros óptimos para la digestión de las plantas.
Optimal parameters for plant digestion.

Factores optimizados	Valor óptimo
Masa vegetal (g)	0,5
Volumen de HNO ₃ (mL)	4
Tiempo en HNO ₃ (h)	1
Temperatura del HNO ₃ (°C)	45
Volumen de H ₂ O ₂ (mL)	1
Tiempo en H ₂ O ₂ (h)	4
Temperatura del H ₂ O ₂ (°C)	45

Una vez optimizado la digestión de las muestras de planta se procede a optimizar el segundo bloque el cual corresponde a la optimización del sistema para la medición de las muestras de plantas.

3.2 Optimización del sistema para la medición de la muestra de plantas (Bloque 2).

El sistema empleado para realizar la medición de las muestras de plantas involucra seis variables que son: Longitud del serpentín de reacción, la longitud de la tubería de transporte, la masa de antiespumante empleado, así como las concentraciones del ácido clorhídrico, borohidruro de sodio e hidróxido de sodio.

Entonces, para optimizar el sistema experimental se recurre de forma análoga al proceso de digestión, al uso de un diseño factorial 2⁶. De esta manera, el diagrama de Pareto obtenido se muestra en la figura 3, y se presenta la tabla de análisis de varianza para los factores involucrados en la tabla 3.

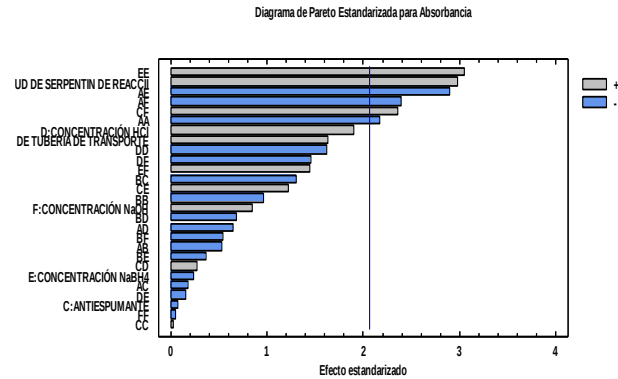


Fig 3. Diagrama de Pareto para la optimización del análisis de muestras.
Pareto diagram for sample analysis optimization.

Tabla 3. Análisis de varianza para los resultados de la optimización del análisis de muestras.

Analysis of variance for the results of the sample analysis optimization.

Fuente	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: longitud de serpentín de reacción	1	0,000417649	8,89	0,0063
B: longitud de tubería de transporte	1	0,000125612	2,67	0,1145
C: antiespumante	1	2,86401E-7	0,01	0,9384
D: concentración de HCl	1	0,000170206	3,62	0,0685
E: concentración de NaBH ₄	1	0,00000273417	0,06	0,8113
F:concentración de NaOH	1	0,0000333991	0,71	0,4071
AA	1	0,000220018	4,68	0,0402
AB	1	0,00001352	0,29	0,5963
AC	1	0,000001445	0,03	0,8622
AD	1	0,0000198025	0,42	0,5220
AE	1	0,000394805	8,41	0,0077
AF	1	0,000267642	5,70	0,0249
BB	1	0,0000435779	0,93	0,3446
BC	1	0,00007938	1,69	0,2054
BD	1	0,00002178	0,46	0,5021
BE	1	0,00000625	0,13	0,7183
BF	1	0,0000135745	0,29	0,5956
CC	1	3,5E-8	0,00	0,9784
CD	1	0,00000338	0,07	0,7907
CE	1	0,00006962	1,48	0,2348
CF	1	0,00026182	5,57	0,0263
DD	1	0,000122426	2,61	0,1190
DE	1	0,000001125	0,02	0,8782
DF	1	0,0000987771	2,10	0,1594
EE	1	0,000436803	9,30	0,0054
EF	1	0,0000972759	2,07	0,1625
FF	1	9,81818E-8	0,00	0,9639
Bloques	1	1,18519E-8	0,00	0,9875
Error total	25	0,0000469646		
Total (corr.)	53			

Los datos de la tabla 3 señalan interacciones entre las siguientes variables: Longitud del serpentín y concentración del hidróxido, longitud del serpentín y concentración del borohidruro y entre la masa de antiespumante y la concentración del hidróxido. Con los datos suministrados al programa de los valores de absorbancia para cada uno de los experimentos del diseño factorial, sugiere el uso de los siguientes valores para cada uno de los parámetros que son presentados en la tabla 4.

Tabla 4. Parámetros óptimos para realizar el análisis de muestras.
Optimal parameters for sample analysis.

Factor	Valor óptimo
Longitud del serpentín de reacción (cm)	24
Longitud de la tubería de transporte (cm)	18
Masa de antiespumante (g)	0,5
Concentración del HCl (M)	1
Concentración del NaBH ₄ (M)	0,075
Concentración del NaOH (M)	0,5

3.3 Validación del método

Una vez identificados todos los parámetros que influyen en el tratamiento de la muestra, se procede a establecer las figuras de mérito del método, así como los correspondientes estudios de precisión y exactitud (Miller, 2002).

A continuación se presenta una tabla con los resultados de la curva de calibración sencilla y adición estándar realizada para las 6 diferentes concentraciones en ppb (0,5, 1, 2, 4, 6 y 8 µg/L).

Tabla 5. Resultados obtenidos de la curva de calibrado sencilla y adición estándar para el mercurio en planta.

Results obtained from the simple calibration curve and standard addition for mercury in plant.

Curva de calibración sencilla		Curva de adición estándar	
Pendiente (m)	(0,0102 ± 0,0008)	Pendiente (m)	(0,0153 ± 0,0002)
Corte (b)	(0,0010 ± 0,0003)	Corte (b)	(0,0697 ± 0,0003)
Coefficiente de Correlación lineal (R ²)	0,9996	Coefficiente de Correlación lineal (R ²)	0,9967

Para corroborar la ausencia de efectos de matriz se realizó la curva de adición de estándar sobre un pool de muestras de planta de la zona, asimismo se lleva a cabo un estudio estadístico con el fin de comparar la pendiente de la curva de calibración sencilla.

El estudio efectuado corresponde al estadístico “t” de Student, el cual consiste en la asociación de dos variables comparando dos coeficientes de regresión o pendientes para estimar con un 95 % de confianza (Cano, 2012). Una vez aplicado la prueba estadística se tiene que la zona de aceptación (ZA) para hipótesis de igualdad de las pendientes: ZA:{0,46< 2,12}. Debido a que el valor de “t” calculado es menor que el “t” teórico, se acepta la hipótesis nula indicando que no existe diferencia significativa entre las pendientes bajo evaluación, asimismo, se puede indicar que el método propuesto está libre de interferencias de tipo físico y químico por parte de la matriz (Vielma et al, 2007).

Ahora, se presenta una tabla con las figuras de mérito del método utilizado para la determinación de mercurio en plantas.

Tabla 6. Figuras de mérito del método utilizado.
Figures of merit of the method used.

Parámetro	Valor establecido
Límite de detección	0,15 µg/L
Límite de cuantificación	0,5 µg/L
Intervalo lineal	(0,5-8) µg/L

Con el fin de evaluar la precisión del método se calculó la desviación estándar relativa (RSD), para ello se procedió a realizar el cálculo de las concentraciones de una muestra de planta, a tres distintas concentraciones 2, 4 y 6 µg/L. La desviación estándar relativa se encuentra en 1 %.

Tabla 7. Valores de concentraciones de mercurio para 2, 4 y 6 µg/L.
Mercury concentration values for 2, 4 and 6 µg/L.

Parámetro	Concentración (µg/L)		
Porcentaje (%)	2*	4*	6*
Réplica 1	(2,02 ± 0,02)	(4,03 ± 0,04)	(6,04 ± 0,05)
Réplica 2	(2,03 ± 0,02)	(4,04 ± 0,06)	(6,06 ± 0,06)
Réplica 3	(2,02 ± 0,01)	(4,02 ± 0,06)	(6,02 ± 0,05)
Promedio	(2,02 ± 0,01)	(4,03 ± 0,04)	(6,04 ± 0,05)
% RDS	1	1	1

* n = 3, ($\bar{X} \pm DS$)

Además se realizó sobre tres muestras de planta, a tres distintas concentraciones 2, 4 y 6 µg/l, con la metodología anteriormente descrita durante 10 días para un total de 30 réplicas. Allí la desviación estándar relativa se encuentra entre 1 - 2 %

Tabla 8. Valores de concentraciones de mercurio en 10 réplicas durante 10 días para 2, 4 y 6 µg/L.

Values of mercury concentrations in 10 replicates over 10 days for 2, 4 and 6 µg/L.

Parámetro	Concentración (µg/L)		
Porcentaje (%)	2*	4*	6*
Réplica 1	(2,02 ± 0,02)	(4,04 ± 0,05)	(6,07 ± 0,05)
Réplica 2	(2,04 ± 0,02)	(4,04 ± 0,05)	(6,08 ± 0,06)
Réplica 3	(2,02 ± 0,04)	(3,89 ± 0,04)	(6,08 ± 0,04)
Réplica 4	(2,05 ± 0,02)	(4,07 ± 0,04)	(6,07 ± 0,05)
Réplica 5	(2,04 ± 0,03)	(4,02 ± 0,03)	(6,10 ± 0,05)
Réplica 6	(2,03 ± 0,01)	(4,06 ± 0,02)	(6,08 ± 0,05)
Réplica 7	(2,05 ± 0,02)	(4,04 ± 0,03)	(6,08 ± 0,04)
Réplica 8	(2,03 ± 0,02)	(4,06 ± 0,03)	(6,02 ± 0,06)
Réplica 9	(2,06 ± 0,01)	(4,06 ± 0,04)	(6,05 ± 0,07)
Réplica 10	(2,06 ± 0,02)	(3,89 ± 0,04)	(6,10 ± 0,06)
Promedio	(2,04 ± 0,01)	(4,02 ± 0,06)	(6,07 ± 0,02)
%RDS	1	2	1

* $n = 10$, ($\bar{X} \pm DS$)

En cuanto a los estudios de exactitud se aplicó el estadístico “t” de Student al resultado de la muestra certificada Standard Reference Material 1575 PINE NEEDLES, con el valor teórico reportado de la muestra certificada, donde la t calculada es 1,85 y el t crítico 2,30, por lo tanto no existe diferencia significativa.

Adicional a esto se procedió a realizar el cálculo de los porcentajes de recuperación a tres muestras, como se obser-

va en la tabla, los porcentajes de recuperación se encuentran entre 99 y 102 % con respecto a la muestra real.

Tabla 9. Valores de Porcentajes de recuperación de muestra certificada. Percentage recovery values of certified sample.

Parámetro	Concentración (µg/L)		
Porcentaje (%)	2	4	6
Réplica 1	(100 ± 1)	(100 ± 1)	(102 ± 2)
Réplica 2	(101 ± 1)	(99 ± 1)	(102 ± 1)
Réplica 3	(102 ± 1)	(100 ± 1)	(101 ± 1)
Promedio	(101 ± 1)	(100 ± 1)	(102 ± 2)
Error porcentual relativo	3	4	3

* $n = 3$, (% de Recuperación ± DS)

3.4 Análisis del contenido de mercurio en las muestras de plantas en las minas inactivas de Puente Roto y El Arenal.

En la tabla 10 se presentan los resultados de las determinaciones de mercurio en las muestras de plantas de la Mina inactiva El Arenal, así como de la Mina Puente Roto.

Tabla 10. Resultados obtenidos de la presencia de mercurio en muestras de planta tomadas en la mina inactiva El Arenal y en la mina inactiva Puente Roto, a diferentes distancias tomando como referencia la laguna.

Results obtained for the presence of mercury in plant samples taken at the inactive El Arenal mine and at the inactive Puente Roto mine, at different distances using the lagoon as a reference.

Distancia de la Laguna	El Arenal Concentración (µg/kg)*	Puente Roto Concentración (µg/kg)*
0-10 mts	(866 ± 10)	(1542 ± 18)
10-20 mts	(694 ± 14)	(1068 ± 6)
20-30 mts	(440 ± 14)	(660 ± 10)

* $n = 5$, ($\bar{X} \pm DS$)

Se desarrolló una metodología utilizando un modelo de Box-Behnken en dos bloques. El primer bloque corresponde a la optimización de la digestión de la muestra de planta, y el segundo bloque a la optimización del sistema para la medición de la muestra. La optimización de la digestión de la muestra se realizó a través de un diseño experimental multi

variado de niveles con siete factores. Los parámetros óptimos fueron: masa vegetal = 0,5 g, volumen de ácido nítrico = 4 mL, tiempo de digestión con ácido nítrico = 1 h, temperatura de digestión con ácido nítrico = 45 °C, volumen de peróxido de hidrógeno para una segunda digestión = 1 mL, tiempo de la segunda digestión con peróxido de hidrógeno = 4 h, y temperatura de la segunda digestión = 45 °C.

En esta optimización, predominaron las interacciones entre la masa de la muestra y la temperatura de la primera digestión con ácido nítrico. Esto se debe a que la cantidad de muestra afecta la precisión de los resultados. Además, es importante que la muestra pueda interactuar completamente con el ácido nítrico, para lo cual la temperatura influye en la velocidad de la reacción. Por otro lado, otra interacción predominante en el sistema es el volumen y la temperatura de la primera digestión. Esto se debe a que el volumen de ácido y la temperatura ayudan a acelerar la digestión sin descomponer los compuestos deseados. Además, mantener una temperatura controlada asegura el funcionamiento óptimo de la digestión.

En cuanto al segundo bloque de la optimización, que corresponde a la optimización del sistema para la medición de la muestra, se realizó un diseño experimental multivariado de dos niveles y seis factores. Los parámetros óptimos son: longitud del serpentín de reacción = 24 cm, longitud de la tubería de transporte = 18 cm, masa de antiespumante = 0,5 g, concentración de ácido clorhídrico = 1 M, concentración de borohidruro de sodio = 0,075 M, concentración de hidróxido de sodio = 0,5 M.

En esta optimización predominaron las interacciones entre las concentraciones de borohidruro de sodio y de hidróxido de sodio, debido a que el borohidruro de sodio actúa como agente reductor en la reacción, mientras que el hidróxido de sodio estabiliza la solución. Por otra parte, también se consideró el serpentín de reacción con la concentración de ácido clorhídrico, ya que es necesario un tamaño adecuado para que la reacción ocurra completamente, además de requerir la muestra acidificada para que el borohidruro de sodio realice el proceso de reducción.

En cuanto a la validación de la metodología se realizaron estudios de precisión, la desviación estándar relativa se encuentra entre 1 y 2 %. Por otra parte, en los estudios de exactitud, el error porcentual relativo se encuentra entre 3 y 4 %. Esto se realizó utilizando una muestra certificada Standard Reference Material 1575 PINE NEEDLES.

Finalmente se analizaron dos grupos de muestras a tres distancias partiendo como referencia lagunas que fueron utilizadas para la explotación del mercurio allí se pudo observar para la mina inactiva el arenal concentraciones entre 440 y 866 µg/kg, del mismo modo para la mina inactiva Puente Roto se encontraron concentraciones entre 660 y

1542 µg/kg.

4 Conclusiones

Se desarrolló una metodología óptima para la determinación de mercurio en plantas utilizando un modelo de Box-Behnken en dos bloques. El primer bloque corresponde a la optimización de la digestión de la muestra de planta, y el segundo bloque a la optimización del sistema para la medición de la muestra.

Las muestras de plantas analizadas provenientes de la zona de las minas inactivas El Arenal y Puente Roto en el municipio Padre Pedro Chien, indicaron inequívocamente la presencia de mercurio en la zona y que su ciclo biogeoquímico está en marcha.

Referencias

- Cano, S., (2012). Mercury contamination due to mining activities. *Biomédica*, 32(3), 309-11.
- Dueñas, R., (2023). Utilización de dragas y su impacto en la contaminación ambiental en la Unidad Minera Vasquez Oeste, provincia Manu, Región Madre de Dios – año 2020.
- Christian, G., (2003). Flow analysis and its role and importance in the analytical sciences. *Analytica Chimica Acta*, 499(1-2), 5-8. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0003-2670\(03\)00360-x](https://doi.org/10.1016/s0003-2670(03)00360-x)
- Martínez, M., (2009). Evolución del contenido en partículas totales en suspensión y en los metales, plomo, cinc, cadmio, cobre, hierro y manganeso, en el aerosol atmosférico de Cartagena, durante el periodo 1995-2000.
- Miller, J., Miller, J., (2002). Estadística y quimiometría para química analítica. Prentice Hall, Ciudad de México.
- Rosique, M., (2016). Gestión de los residuos y suelos contaminados provenientes de la minería metálica: aspectos técnicos, problemas ambientales y marco normativo.
- Salvador, A., Alcaide, A., Sánchez, C., Salvador, L., (2005). Evaluación de impacto ambiental (pp. 55-65). Pearson Educación.
- Streets, D., Devane, M., Lu, Z., Bond, T., Sunderland, E., Jacob, D., (2011). All-Time Releases of Mercury to the Atmosphere from Human Activities. *Environmental Science & Technology*, 45(24), 10485-10491. DOI: <https://doi.org/10.1021/es202765m>
- Valenzuela, Á., Lucumi, C., (2017). Caracterización de efluentes y diques en la planta de beneficio “San Juan” del municipio de Suarez Cauca como insumo de posibles alternativas de mitigación y control de los impactos generados por

el mercurio (Doctoral dissertation, Uniautónoma del Cauca. Facultad de Ciencias Ambientales y Desarrollo Sostenible. Programa de Ingeniería Ambiental y Sanitaria).

Vielma, A., Carrero, P., Rondón, C., Medina, M., (2007). Comparación del contenido de minerales y elementos trazas en la harina de lombriz de tierra (*Eisenia foetida*) utilizando dos métodos de secado. *Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente*, 19(1), 83-89.

Juan Ruiz, Estudiante de la Lic. en Química. Laboratorio de Espectroscopia Molecular (LEM). Universidad de Los Andes, Venezuela. Correo electrónico: juan-druiz99@gmail.com

 <https://orcid.org/0009-0001-3318-6062>.

Ana Yaguare, Estudiante de la Lic. en Química. Laboratorio de Espectroscopia Molecular (LEM). Universidad de Los Andes, Venezuela. Correo electrónico: anakarinayaguare28@gmail.com

 <https://orcid.org/0009-0007-2478-7601>.

Recibido: 04 de marzo de 2024

Aceptado: 10 de octubre de 2024

Fernando Méndez, Lic. en Química: estudiante de Doctorado en Química Analítica. Laboratorio de Espectroscopia Molecular (LEM). Universidad de Los Andes, Venezuela.

 <https://orcid.org/0009-0004-5427-6384>.

Carlos Rondón, Doctor en Química Analítica. Laboratorio de Espectroscopia Molecular (LEM). Universidad de Los Andes, Venezuela. Correo electrónico: 19enricar59@gmail.com

 <https://orcid.org/0009-0006-8737-3572>.

Carlos Ayala, Doctor en Química Analítica. Laboratorio de Espectroscopia Molecular (LEM). Universidad de Los Andes, Venezuela. Correo electrónico: carlosayala@ula.ve

 <https://orcid.org/0000-0002-7264-5208>.

Valery John, Lic. en Química mención Tecnología. Universidad Central de Venezuela, Venezuela. Profesional asociado a la Investigación, Laboratorio de Química Analítica, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC). Correo electrónico: lic.valeryjohn@gmail.com

 <https://orcid.org/0009-0005-4507-9474>.

Luisana Miliani, Lic. en Química. Laboratorio de Espectroscopia Molecular (LEM). Universidad de Los Andes, Venezuela. Correo electrónico: luisanamf11@gmail.com

 <https://orcid.org/0009-0007-3335-0321>.

Edgar Albarrán, Lic. en Química. Laboratorio de Espectroscopia Molecular (LEM). Universidad de Los Andes, Venezuela. Correo electrónico: edgar18albarran@gmail.com

 <https://orcid.org/0009-0001-8061-893X>.

Mariana Salcedo, Estudiante de la Lic. en Química. Laboratorio de Espectroscopia Molecular (LEM). Universidad de Los Andes, Venezuela. Correo electrónico: mgusalcedo@gmail.com

 <https://orcid.org/0009-0009-8962-0591>.