

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE COSTA RICA
ESCUELA DE QUÍMICA
CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

Proyecto Final de Graduación para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería
Ambiental

**“Uso potencial de la mosca (*Musca sp.*) como bioindicador de contaminación por
mercurio en zonas urbanas del Área Metropolitana de San José”**

Anthony Crisanto Ramírez Méndez

CARTAGO, octubre, 2021

TEC | Tecnológico de Costa Rica
Ingeniería Ambiental

“Estudio exploratorio del uso de la mosca doméstica (*Musca spp.*) como potencial bioindicador de contaminación por mercurio en zonas urbanas del Área Metropolitana de San José”

Informe presentado a la Escuela de Química del Instituto Tecnológico de Costa Rica como requisito parcial para optar por el título de Ingeniero Ambiental con el grado de licenciatura

Miembros del tribunal

M. Sc. Carlos Calleja Amador
Director

Ph.D Laura Chavarría Pizarro
Lector 1

Ph.D Isaac Céspedes Camacho
Lector 2

Dra.ir. Mary Luz Barrios Hernández
Coordinador COTRAFIG

MGLA. Ricardo Coy Herrera
Director Escuela de Química

M.Sc Ana Lorena Arias Zúñiga
Coordinadora Carrera de Ingeniería Ambiental

DEDICATORIA

A Dios, porque sin él nada es posible. A mis padres, porque su trabajo y amor me permitió llegar a donde estoy hoy. A Luis, por darme empujones para que alcanzara esta meta.

AGRADECIMIENTOS

Agradecer primeramente a mi director M. Sc. Carlos Calleja por la oportunidad brindada y la paciencia para el desarrollo de este trabajo. Agradecimiento también al Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas (IRET) de la Universidad Nacional (UNA) por facilitar mi trabajo con préstamo de equipo, estándares y personal. Al señor M.Sc. Clemens Ruepert por guiarme en el uso de los equipos, a la Lic. Marilú Morera González por la ayuda durante las mediciones de las muestras y a la Ph.D. María Martínez Cruz por la coordinación para que pudiera hacer uso de las instalaciones de la UNA. Al Laboratorio Institucional de Microscopía (LIM) del TEC y al investigador Alejandro Medaglia Mata por la colaboración con la obtención de imágenes SEM. A la Dra. Laura Chavarría Pizarro por su guía para la elaboración de los criaderos de las moscas. A la compañera María Jesús Peralta por su ayuda con el control de los criaderos.

TABLA DE CONTENIDO

1	INTRODUCCIÓN	1
2	OBJETIVOS	3
2.1.1	Objetivo general	3
2.1.2	Objetivos específicos	3
3	REVISIÓN DE LITERATURA	5
3.1	<i>ANTECEDENTES Y PROBLEMÁTICA DE LA CONTAMINACIÓN CON MERCURIO</i>	5
3.1.1	El mercurio y su peligrosidad	5
3.1.2	Convenio de Minamata	6
3.2	<i>PRESENCIA DE MERCURIO EN BIOTA</i>	8
3.2.1	Dinámica ambiental del mercurio: del medio natural a los seres vivos.	8
3.2.2	Mercurio en insectos	11
3.2.3	Mercurio en Costa Rica	14
3.3	<i>ASPECTOS ANALÍTICOS DE LA DETERMINACIÓN DE MERCURIO</i>	17
3.3.1	Técnicas según la especie	17
3.3.2	Técnicas de análisis	19
3.3.2.1	Espectrometría de absorción atómica con horno de grafito GFAAS	19
3.3.2.2	Espectrometría de emisión atómica con plasma ICP-AES	20
3.3.2.3	Espectrometría de masas acoplada a plasma ICP-MS	20
3.3.2.4	Espectrometría de absorción atómica con vapor frío CVVAS	21
3.3.2.5	Espectrometría de fluorescencia atómica CV-AFS	21
3.3.2.6	Cromatografía por detección con espectrómetro de masas GC-MS/HPLC-MS	21
3.3.2.7	Analizador de mercurio	22
3.3.2.8	Análisis elemental por microscopía SEM/EDS XAS	23
4	MATERIALES Y MÉTODOS	25
4.1	<i>Lugar de estudio</i>	26
4.2	<i>Recolección de muestras</i>	27
4.3	<i>Muestras de control de moscas</i>	28

4.4	<i>ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS</i>	28
4.4.1	Análisis SEM/EDS	31
5	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
5.1	<i>Muestreo #1</i>	33
5.2	<i>Muestreo #2</i>	38
6	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	49
6.1	<i>Conclusiones</i>	49
6.2	<i>Recomendaciones</i>	49
7	REFERENCIAS	51
	APÉNDICES	57
	Apéndice 1: Preparación de Curvas de calibración, método desarrollado por el IRET.	
	<i>57</i>	
	ANEXOS	61

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 Representación gráfica del ciclo geoquímico del mercurio (Barkay, 2003).....	9
Figura 3.2 Ciclo de vida de la Musca domestica (Schlapbach, 2017).....	13
Figura 3.3 Especiación del mercurio definida operativamente.	17
Figura 4.1 Barrios josefinos elegidos para el muestreo #1.....	26
Figura 4.2 Barrios josefinos elegidos para el muestreo #2.....	27
Figura 4.3 Sitio de muestra control ubicado en la zona de Cartago.	27
Figura 4.4 Criaderos para la población control.	27
Figura 4.5. Diagrama de funcionamiento del analizador de mercurio Nippon MA-3000. Foto de la pantalla de control del instrumento.....	29
Figura 4.6 Muestras de moscas colocadas para su medición en los pocillos de muestra.	30
Figura 4.7 Residuo de cenizas producto de la medición de las moscas en el Nipon MA-3000	30
Figura 5.1 Curva de calibración #1 para muestras en un ámbito de concentraciones de 8 ng Hg hasta 1044 ng Hg.	33
Figura 5.2 Curva de calibración #2 para muestras en un ámbito de concentraciones de 626 ng Hg hasta 10280 ng Hg.	36
Figura 5.3 Curva de calibración #3 para muestras en un ámbito de concentraciones de 6,4 ng Hg hasta 808 ng Hg.	39
Figura 5.4 Curva de calibración #4 para muestras en un ámbito de concentraciones de 0,27 ng Hg hasta 6,37 ng.....	40
Figura 5.5. Imágenes de la mosca obtenidas mediante microscopía SEM.....	47
Figura 5.6. Análisis elemental realizado a muestras de moscas mediante microscopía SEM.	48

LISTA DE CUADROS

Cuadro 3.1 Resumen de las estimaciones de mercurio producto de diversas actividades llevadas a cabo en Costa Rica. (Fernández, 2017).	16
Cuadro 3.2 Medidas de conservación de muestras para análisis de mercurio según el tipo de matriz (Ariza, 2019).	18
Cuadro 5.1 Elaboración de la curva de calibración #1 de 8 ng Hg hasta 1044 ng Hg.	33
Cuadro 5.2 Concentración de mercurio obtenido en las muestras de moscas utilizando la curva de calibración #1	34
Cuadro 5.3 Elaboración de la curva de calibración #2 de 626 ng Hg hasta 10280 ng Hg. ..	35
Cuadro 5.4 Concentración de mercurio obtenido en las muestras de moscas utilizando la curva de calibración #2.....	37
Cuadro 5.5 Resumen de resultados para el primer muestreo de mercurio en moscas realizado entre noviembre de 2019 y enero de 2020.....	38
Cuadro 5.6 Elaboración de la curva de calibración #3 de 6,4 ng Hg hasta 808 ng Hg.	40
Cuadro 5.7 Elaboración de la curva de calibración #4 de 0,27 ng Hg hasta 6,37 ng Hg.	40
Cuadro 5.8 Concentración de mercurio obtenido en las muestras de moscas para el muestreo #2	42
Cuadro 5.9 Resumen de resultados para el segundo muestreo de mercurio en moscas realizado entre abril y junio de 2020..	43
Cuadro 5.10 Concentración de mercurio para las moscas control de los criaderos, sus larvas y el sustrato con el que fueron alimentadas.....	44
Cuadro 5.11 Resumen de resultados para los criaderos control	45

LISTA DE SIGLAS Y ACRÓNIMOS

ONU	Organización de Naciones Unidas
PNUMA	Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente
DIGECA	Dirección de Gestión de la Calidad Ambiental
GEF	Fondo Mundial para el Medio Ambiente
US-EPA	Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos
IRET	Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas
SEM	Microscopía Electrónica de Barrido (siglas en inglés para Scanning Electron Microscope)
LIM	Laboratorio Institucional de Microscopía

RESUMEN

El Convenio Minamata solicita a los países firmantes realizar investigación que brinde información acerca del estado de la contaminación por mercurio, un elemento tóxico para los seres vivos, cuyo incremento en el medio ambiente es producto de actividades humanas. Uno de sus ejes establece el monitoreo de biota, requiriendo métodos de análisis y resultados que permitan evitar o mitigar las consecuencias de la contaminación por mercurio. Como parte de este planteamiento se propuso evaluar si hay potencial en el uso de las moscas (*Musca sp.*) para ser utilizadas como bioindicadores de la contaminación por mercurio en áreas urbanas. Se recolectaron muestras en diferentes zonas del Área Metropolitana de San José, las cuales fueron procesadas mediante un Analizador de Mercurio Nippon MA-3000 para determinar su contenido de mercurio. Durante un primer muestreo se encontraron niveles de mercurio en un rango de 0,17 mg Hg/kg y hasta los 21,07 mg Hg/kg. Para el segundo muestreo se determinaron valores de hasta 22,9 µg Hg/kg. Los datos obtenidos presentan una gran variabilidad entre muestras debido a que el comportamiento de las moscas, el medio circundante y principalmente su dieta, influyen en el contenido de mercurio que estas pueden acumular en sus cuerpos.

Palabras clave: mercurio, moscas, áreas urbanas, Convenio Minamata

ABSTRACT

Minamata Convention asks signatory countries to conduct research that brings information about mercury, a toxic element to living beings but very used in human activities. One of its axes establishes biota monitoring, requiring analysis and results that allow avoiding or mitigating the consequences of mercury contamination. As part of this approach, it was proposed to evaluate if there is potential in the use of flies (*Musca sp.*) to be used as bioindicators of mercury contamination in urban areas. Samples were collected in different zones of the metropolitan area of San José, which were processed using a Mercury Analyzer Nippon MA-3000 to determine their mercury content. During the first sampling, there were found levels of mercury between 0,17mg Hg/kg and 21,07 mg Hg/kg. During the second sampling, there were found values up to 22,9 µg Hg/kg. Obtained data presented high variability between samples because the flies' behavior, surrounding environment and mainly their diet, influence the mercury content that they can accumulate in their body.

Key words: mercury, flies, urban areas, Minamata Convention

1 INTRODUCCIÓN

Las actividades humanas han derivado en un incremento de la concentración de sustancias químicas que causan daños al medio ambiente. Un ejemplo es la contaminación por metales pesados como el mercurio. A pesar de tener un ciclo geoquímico natural, sus concentraciones en aire, suelo y agua han aumentado debido a las actividades humanas. Los metales pesados son elementos de alto peso atómico y densidad. Su toxicidad es muy elevada, incluso a bajas concentraciones, y exhiben bioacumulación (Duruibe, 2007). El mercurio es un elemento que ha sido muy utilizado por el hombre desde la antigüedad. En consecuencia, su extracción y procesamiento han redistribuido e incorporado grandes cantidades en la atmósfera, aguas superficiales y al suelo, sitios donde antes no estaba, causando serios problemas de contaminación (Parsons, 2005). El reconocimiento de esta problemática por parte de gobiernos, empresas y la sociedad civil, ha tomado muchas décadas. Sin embargo, en la actualidad se cuenta con un conjunto de regulaciones para su control a nivel mundial.

En el año 2007 se promulgó el Convenio de Minamata sobre mercurio. Este es un convenio internacional impulsado por la Organización de Naciones Unidas. Recibió su nombre por la intoxicación masiva de pobladores de la Bahía de Minamata en Japón a mediados del siglo XX. Dicha intoxicación provocó efectos neurológicos irreversibles en las personas, e incluso su muerte. A la enfermedad causada por esta exposición se le conoce desde entonces como enfermedad de Minamata. El convenio insta a las partes firmantes al manejo de los residuos de mercurio en apego a prácticas ambientalmente amigables. Complementariamente, promueve la integración de políticas e investigación que permitan obtener información confiable acerca de la contaminación por mercurio y la forma de prevenir su impacto en los ecosistemas, pues aún existen vacíos importantes en el acopio de datos. Surge entonces la necesidad de encontrar métodos de muestreo y análisis para determinar las concentraciones de mercurio presentes en diferentes matrices del entorno natural y urbano. Esa información sería útil para formular políticas informadas que permitan evitar o mitigar las consecuencias de la contaminación por mercurio (Budnik, 2019).

El mercurio se distribuye en el suelo, el agua, el aire y la biota, en diferentes especies químicas y con diferentes concentraciones, cada una con tiempos de vida media específicos y por ende una alta variabilidad en su determinación debido al dinamismo de su ciclo

geoquímico. Se han generado múltiples herramientas analíticas para determinar los niveles de mercurio en cada sustrato: técnicas espectrométricas, cromatográficas, análisis elementales, entre otras. De igual forma diferentes técnicas de muestreo acordes a la matriz en estudio: muestreadores pasivos, muestreadores activos y muestreos directos se encuentran entre los más utilizados (Cortés, 2017).

El convenio de Minamata establece el monitoreo de biota como uno de sus ejes de investigación, esto en el mercurio es muy importante debido a su alta capacidad para bioacumularse en los organismos a través de la cadena trófica. Se propuso la utilización de un ser vivo como bioindicador de contaminación por mercurio. Medir el contenido de mercurio en un organismo que es parte del ecosistema puede ser un mejor indicativo de la contaminación que si se realizara mediciones sobre los componentes abióticos del mismo. En este caso el ecosistema elegido para este estudio fue el área metropolitana de San José, al ser una zona urbana la biota del ecosistema presenta menor biodiversidad y por esto la elección del bioindicador es más limitada. Se propuso a la *Musca sp.* (moscas) como candidata al estudio debido a su amplia presencia en este tipo de ecosistema y su corto tiempo de vida lo cual provee una ventana de tiempo pequeña para evaluar los cambios en el medio por orígenes antropogénicos (Álvarez, 2016).

Este estudio pretende mostrar si la *Musca sp.* puede ser utilizada como bioindicador para la contaminación por mercurio en el área metropolitana de San José. Se recolectaron muestras de moscas en diferentes puntos de la zona y se definió una técnica analítica para la determinación de la concentración de mercurio en las moscas. También se generó un artículo científico con la finalidad de comunicar estos resultados al grupo focal del Convenio de Minamata en Costa Rica, lo que sienta un precedente en las investigaciones de mercurio en biota urbana.

2 OBJETIVOS

2.1.1 Objetivo general

Evaluar a *Musca sp.* como posible bioindicador de contaminación con mercurio en zonas urbanas del área metropolitana de San José

2.1.2 Objetivos específicos

Definir una metodología que se ajuste a la preparación y medición de mercurio en *Musca sp.*
Determinar la concentración de mercurio total en moscas del área metropolitana de San José para mostrar su uso potencial como bioindicador de contaminación.

3 REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 ANTECEDENTES Y PROBLEMÁTICA DE LA CONTAMINACIÓN CON MERCURIO

3.1.1 El mercurio y su peligrosidad

El mercurio es el elemento N° 80 en la Tabla Periódica de los elementos. Es un metal plateado, líquido a temperatura ambiente y de alta volatilidad por encima de los 40° C. Una de sus cualidades más importantes es la de formar aleaciones con otros metales. A esas aleaciones se les conoce como amalgamas, y muchas de ellas tienen importancia a nivel industrial. El mercurio es un metal con una alta toxicidad. Puede afectar los órganos y tejidos de los seres vivos en los cuales se aloja. Entre los posibles efectos que puede causar se encuentran: inmunotoxicidad, nefrotoxicidad, disminución de la capacidad y funciones neurológicas, afectación del sistema endocrino, daño al proceso reproductivo y alteración de la calidad de la progenie de los seres intoxicados (Eagles-Smith, 2018).

El mercurio ha estado presente de forma natural en el complejo geoquímico terrestre, siendo aportado por afloraciones naturales y eventos geológicos, tales como erupciones volcánicas. Sin embargo, las actividades humanas como el uso de combustibles fósiles y la minería de oro han introducido nuevos flujos al ciclo geoquímico del mercurio, además de los presentes en la corteza y la biósfera, con otras especies aún más tóxicas, como el dimetilmercurio. (Budnik, 2019).

Entre las principales fuentes de mercurio de origen antropogénico, destacan las siguientes: la producción y combustión de carbón, la minería de materiales no ferrosos, la extracción de oro, la minería de mercurio, la producción de hierro y acero, la fabricación de cemento, la catálisis para la producción de plásticos, el consumo de baterías, la fabricación de lámparas fluorescentes y equipos eléctricos, y la fabricación de algunos instrumentos tales como termómetros, barómetros y esfigmomanómetros. Todas estas fuentes producen vapores de mercurio, así como efluentes y residuos sólidos con gran contenido de dicho metal. Todos los flujos de mercurio en cualquiera de sus formas ingresan finalmente a la atmósfera, el suelo y el agua, donde aumenta el riesgo por exposición para los seres humanos (Huang Y, 2017).

Las zonas industriales y las zonas urbanas son especialmente susceptibles a la exposición a diferentes especies de mercurio porque existen diversos focos de contaminación. Por ejemplo, China estimó que sus emisiones totales de mercurio en 2012 fueron de 2151 toneladas. También estimaron un incremento anual del 4,2%. Esto representa la cuarta parte de las emisiones antropogénicas globales de origen industrial y urbano (Huang Y, 2017).

Otra fuente de mercurio antropogénico es la corriente de residuos sólidos. Por ejemplo, entre 1980 y 2010 las emisiones de mercurio en China se redujeron de 1,80 gramos por tonelada de residuos a 0,57 gramos por tonelada de residuos. Sin embargo, el incremento en la cantidad de residuos sólidos provocó que el flujo total de mercurio aumentara de 177,8 toneladas a 1004,2 toneladas (Huang Y, 2017). Esta situación ha sido generalizada en la mayoría de los países industrializados. Como consecuencia de estos cambios, se promulgaron distintas medidas de mitigación impulsadas por la Organización de Naciones Unidas (ONU). En la siguiente sección se describe el principal instrumento que agrupa esas disposiciones.

3.1.2 Convenio de Minamata

En el año 2013 se promulgó el Convenio Minamata sobre Mercurio. El Convenio es un acuerdo multilateral orientado hacia la reducción de las emisiones antropogénicas de mercurio y sus compuestos. En él se establecen medidas tanto locales como globales, que incluyen a la industria, el gobierno, la investigación, e incluso la vida diaria. Considera necesario que los países signatarios mantengan un monitoreo constante para evaluar el riesgo de la contaminación y la eficacia de las medidas aplicadas. A su vez, fomenta la investigación científica para comprender la dinámica del mercurio en el medio ambiente, y para proveer soluciones para la mitigación de su impacto ambiental y sanitario (Chen C. 2018).

El Convenio de Minamata sobre Mercurio fue firmado por Costa Rica en 2013. Uno de los aspectos que favorece al país es que en artículo 19 dedicado a la investigación, desarrollo y vigilancia, establece lo siguiente (ONU, 2013)¹²:

“Las partes se esforzarán por cooperar, teniendo en consideración sus respectivas circunstancias y capacidades en la elaboración y el mejoramiento de...

b) La elaboración de modelos y la vigilancia geográficamente representativa de los niveles de mercurio y compuestos de mercurio en poblaciones vulnerables y el entorno, incluidos medios bióticos como los peces, los mamíferos marinos, las tortugas marinas y los pájaros, así como la colaboración en la recopilación y el intercambio de muestras pertinentes y apropiadas...

e) La información sobre el ciclo ambiental, el transporte (incluidos el transporte y la deposición a larga distancia), la transformación y el destino del mercurio y los compuestos de mercurio en un conjunto de ecosistemas, teniendo debidamente en cuenta la distinción entre las emisiones y liberaciones antropógenas y naturales de mercurio y la nueva movilización de mercurio procedente de su deposición histórica” Art.19.1.

“Cuando corresponda, las partes deberían aprovechar las redes de vigilancia y los programas de investigación existentes al realizar las actividades definidas en el párrafo 1” Art.19.2.

Para abarcar los ámbitos de investigación, desarrollo y vigilancia, el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA) estableció redes para el monitoreo de mercurio con distintos centros de investigación y laboratorios alrededor del planeta. Esas redes concentran sus operaciones en tres ejes principales (UNEP, 2016):

1. Monitoreo atmosférico: El mercurio se distribuye en diferentes formas, cada una con diferente persistencia y movilidad en el ecosistema. Considera prioritario el estudio de la interfaz aire-agua, pues es donde ocurre la mayor parte de la especiación del mercurio (UNEP, 2016).
2. Bio-monitoreo humano: La existencia de mercurio en los tejidos genera efectos adversos para la salud humana. Es importante considerar la exposición a productos que contienen mercurio, riesgos laborales (tanto formales como informales), poblaciones susceptibles y el consumo de alimentos contaminados (UNEP, 2016).

3. **Monitoreo de biota:** La acumulación de mercurio como metilmercurio y dimetilmercurio en organismos (principalmente acuáticos) y su bio-magnificación en la cadena alimenticia, son objeto de interés permanente. La acumulación de mercurio en la biota permite tener información de referencia para evaluar riesgos. tomar acciones preventivas y proyectar tendencias hacia el futuro (UNEP, 2016). Este punto reviste especial importancia dentro de este trabajo, por la naturaleza de su enfoque hacia el cumplimiento del país con el Convenio de Minamata. En la siguiente sección se explican los aportes conocidos hasta la fecha.

3.2 PRESENCIA DE MERCURIO EN BIOTA

3.2.1 **Dinámica ambiental del mercurio: del medio natural a los seres vivos.**

El mercurio es un contaminante que exhibe diversas formas de especiación en el ambiente. Esas especies incluyen compuestos en los que el mercurio tiene diferentes estados de oxidación en moléculas orgánicas e inorgánicas. Cada especie tiene una persistencia ambiental, una capacidad para integrarse a los seres vivos, y producir efectos nocivos, diferente en virtud del tipo de compuesto. El metilmercurio es la especie en la que se encuentra el 95% del mercurio total en los seres vivos. El dimetilmercurio es el más tóxico que se conoce hasta la fecha, puede causar la muerte incluso a muy bajas concentraciones (Rice, 2014)

La figura 3. 1 representa una simplificación de los procesos fisicoquímicos que puede mostrar el mercurio en el medio ambiente (Gaona, 2004). Los procesos mostrados en la figura corresponden a la integración del ciclo natural, cuyo componente principal es la circulación atmosférica de mercurio, junto con el ciclo local. Este último, involucra el mercurio de fuentes antropogénicas y sus transformaciones químicas inmediatas en el ambiente circundante (Boening, D. 2000)

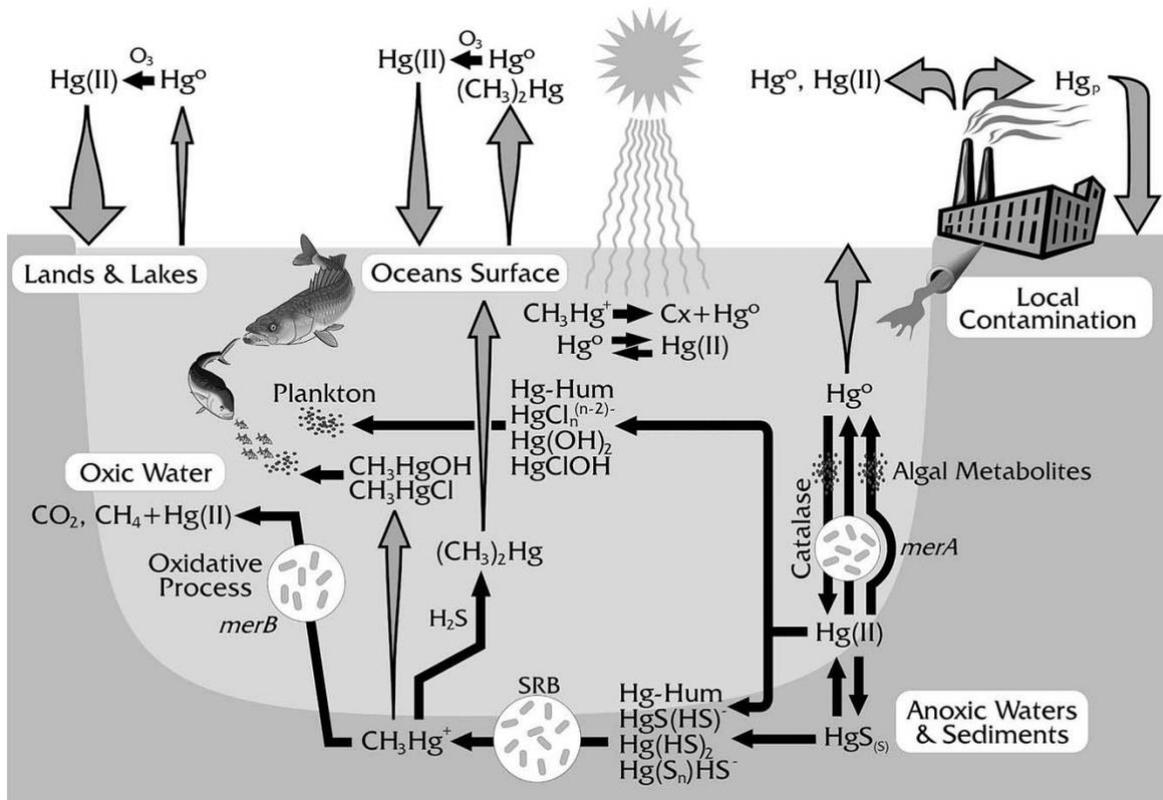


Figura 3.1 Representación gráfica del ciclo geoquímico del mercurio (Barkay, 2003)

En la atmósfera, el mercurio se encuentra principalmente en forma elemental gaseosa Hg^0 . Esta especie química proviene tanto de fuentes geológicas como antropogénicas. Las plantas para la producción de energía a partir de la combustión de carbón hulla, y otras industrias que incorporan mercurio u otros compuestos de mercurio en sus procesos, emiten mercurio como Hg^{2+} y comúnmente adsorbido en material particulado. En el aire superficial se estima una media global para la concentración de Hg^0 igual a $1,6 \text{ ng}\cdot\text{m}^{-3}$ con una persistencia entre seis meses y un año. Otras especies muestran una mayor variación en su concentración, oscilando entre 1 y $100 \text{ pg}\cdot\text{m}^{-3}$, y una persistencia ambiental máxima de sólo algunas semanas debido a su alta solubilidad en agua (Selin, 2009).

La dispersión del mercurio atmosférico está ligada a su persistencia en la atmósfera. El Hg^0 gaseoso tiene una mayor propagación desde los focos de contaminación, a diferencia de otras especies no volátiles que son depositadas con mayor velocidad en el agua o suelo. En consecuencia, tiene un impacto sobre un área más extensa (Prete, 2018). El Hg^0 gaseoso

es la especie de mercurio más difícil de controlar debido a su limitada solubilidad en agua y a su alta volatilidad (Pavlis, 2003).

En el suelo, el mercurio puede estar presente en forma natural, o provenir del intercambio con el aire, el agua o de una corriente antropogénica que lo contenga, tal como residuos sólidos. En cualquiera de estos casos, el destino del mercurio es su fijación por medio de la formación de enlaces con átomos de azufre en los grupos sulfuro de la materia orgánica en la capa superficial del suelo. Su concentración se estima entre 20 y 70 ng Hg total·g⁻¹ de suelo. El mercurio que se ha depositado y ha sido adsorbido en la materia orgánica, permanece en el suelo, mientras que el que no se encuentra fijado puede ser metilado por acción bacteriana, disuelto y alcanzar un cuerpo de agua por escorrentía (Selin, 2009). El mercurio fijado puede ser emitido del suelo a la atmósfera posterior a procesos naturales de reducción y difusión, especialmente desde capas con acumulación de ácidos húmicos, fúlvicos o hierro. Debido a la presencia de mercurio en estas capas, la quema de biomasa también contribuye con un retorno de Hg⁰ a la atmósfera. Se estima que alrededor de 600 toneladas de mercurio por año provienen de incendios forestales. Por ejemplo, en Australia, se ha estimado esta contribución entre 7 y 129 toneladas por año (Howard, 2019).

La transferencia de mercurio entre la atmósfera y el suelo también puede ocurrir por deposición húmeda. En este proceso, el mercurio experimenta reacciones de oxidación que lo llevan a su forma oxidada como Hg²⁺ (que tiene una mayor hidrofiliidad y es fácilmente adsorbida en material particulado) que es arrastrada por la lluvia o las nubes, precipitándolo sobre el suelo.

La contaminación por mercurio en cuerpos de agua es la que representa un mayor riesgo para los seres vivos, pues es en esta parte del ciclo donde ocurren las reacciones hacia la formación de especies orgánicas como el metilmercurio que puede ingresar a los tejidos de las criaturas y acumularse. La metilación del mercurio es un proceso llevado a cabo por una multitud de microorganismos que forman parte del biofilm en zonas pantanosas y en los lechos acuáticos donde la presencia de oxígeno es menor, principalmente por bacterias metanogénicas y sulfatoredutoras (Wilkinson, 2018).

En la década de los 60's, Rudd et al. estudiaron la concentración de mercurio en un estuario, con el objetivo de identificar patrones que condujeran a determinar la persistencia ambiental del mercurio. En la zona de estudio una industria descargaba residuos con

mercurio, con un flujo estimado de 160 gramos por día. En el año 2000 la industria se instaló una planta para el tratamiento del efluente. El flujo contaminante fue reducido hasta 6 gramos por día. No obstante, 50 años después las concentraciones de mercurio en sedimentos se encontraban entre 350 y 1100 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ en peso seco, hasta 10,5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en sangre de aves del pantano; y hasta 0,8 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en carne de aves y mariscos. Las altas concentraciones en sitios acuáticos dependen de la fijación del mercurio a los sedimentos del lecho, provocando una lenta recuperación del ecosistema. (Rudd, 2018).

3.2.2 Mercurio en insectos

El medio ambiente natural es capaz de mantener el balance de materia y energía en los ecosistemas, y mitigar el impacto de la presencia de las comunidades biológicas existentes integrándola a sus respectivos ecosistemas. Cada ambiente posee una composición que incluye individuos y organización funcional específica. Los constituyentes de cada ambiente experimentan diversos procesos en diferentes condiciones. Cuando éste se expone a perturbaciones externas, los mismos constituyentes puede exhibir cambios medibles. Por ejemplo, la acumulación de agentes xenobióticos en biota puede ser monitoreada partir de mediciones en diferentes especímenes, incluso de forma selectiva (Anze, 2007).

Todos los organismos (o comunidades) responden a estímulos ambientales mediante una alteración fisiológica o acumulación de contaminantes, sin embargo, aquellos que son más sensibles a los cambios, incluso a pequeña escala, son conocidos como *bioindicadores*. Estos son utilizados para medir los efectos de la contaminación sobre la biota y el riesgo potencial para otros seres vivos, incluyendo a los seres humanos (Anze, 2007).

Cuando los organismos son utilizados para cuantificar los efectos de la contaminación por comparación con un ámbito conocido del efecto, se denominan *biomonitores*. Se habla de *biomonitoreo* cuando los biomonitores permiten relacionar la respuesta del organismo con la contaminación del medio. La respuesta puede ser la acumulación del contaminante. Requiere que su medición sea fácil, de bajo costo y diferenciada de los efectos naturales del entorno. En el biomonitoreo también se distingue entre *biomonitoreo pasivo*, cuando se registran resultados de especies que ya existen en la zona; y *biomonitoreo activo*, cuando los organismos son introducidos para evaluar su exposición de manera controlada (Anze, 2007).

Un ejemplo de ambos tipos es el uso de insectos, que además también muestran *biomagnificación*, i.e. el aumento en la concentración del contaminante a lo largo de la red trófica cuando estos son insectos depredadores o sarcosaprófagos.

El uso de insectos como bioindicadores de contaminación por metales pesados ha sido estudiado desde décadas atrás en diferentes zonas del planeta. Se han utilizado diferentes tipos de insecto para múltiples contaminantes. En años recientes, los estudios en insectos se han extendido, aprovechando especies autóctonas. Sin embargo, el pequeño tamaño de los especímenes requiere niveles analíticos de detección y cuantificación muy bajos para evitar recolectar muestras de gran tamaño. Investigadores, han estudiado la factibilidad del uso de guérridos, libélulas, hormigas y hormigas león como potenciales indicadores de contaminación por hierro, manganeso, zinc, cobre, níquel, cadmio y plomo (Heikens, 2001; Nummelin, 2007).

Se han realizado varios estudios en especies de insectos ligadas a ecosistemas acuáticos, pues en el agua es donde mayoritariamente se produce el metilmercurio, que es el compuesto más tóxico de mercurio, y con mayor potencial de bioacumulación. Hasta donde se tiene conocimiento, se han conducido pocas investigaciones en especies de insectos terrestres, tanto para la determinación de metilmercurio como de mercurio elemental. El equipo de Zhang realizó un estudio sobre la presencia de mercurio total en insectos terrestres, siguiendo la cadena *suelo-pasto-saltamontes-araña*. Los autores encontraron que efectivamente la biomagnificación del mercurio en cadenas alimenticias terrestres es menor que la que se presenta en cadenas alimenticias acuáticas (Zhang, 2010).

Ecológicamente, los insectos son buenos indicadores de las condiciones ambientales, predominando aquellos ligados a la contaminación antropogénica como, por ejemplo, el uso de macroinvertebrados para evaluar las condiciones de los cuerpos de agua. Si bien, la mayoría de las investigaciones se han enfocado en la contaminación de ambientes menos intervenidos por el hombre, existen estudios enfocados también a zonas con fuerte influencia industrial o zonas urbanas. Azam (2015) y colaboradores realizaron experimentos para determinar la concentración de metales pesados en libélulas, saltamontes y mariposas en la zona urbana e industrial de Gujarat (Pakistán). Encontraron que la expansión urbana y el aumento de industrias en la zona tienen incidencia en el aumento de la contaminación por metales pesados y su aparición en la biota local.

Para la elección de un insecto como bioindicador es necesario considerar una amplia distribución del organismo, la posibilidad de identificar taxonómicamente al individuo y determinar su nicho en los diferentes ecosistemas terrestres (incluidos tanto espacios rurales como urbanos), además este debe ser sensible a la presencia del contaminante en estudio (Sommagio, 1999). Los insectos además son útiles en la detección de contaminantes orgánicos e inorgánicos debido a su alta tasa de reproducción y su corto tiempo de vida (Perugini, 2011).

En particular, las moscas, son insectos pertenecientes al orden Diptera. Poseen un par de alas, su dieta se basa principalmente en materia orgánica en proceso de descomposición (se denominan sarcocaprófagos). Las moscas poseen un ciclo de metamorfosis completa: huevo, larva, pupa y adulto. Este ciclo se muestra en la figura 3.2.

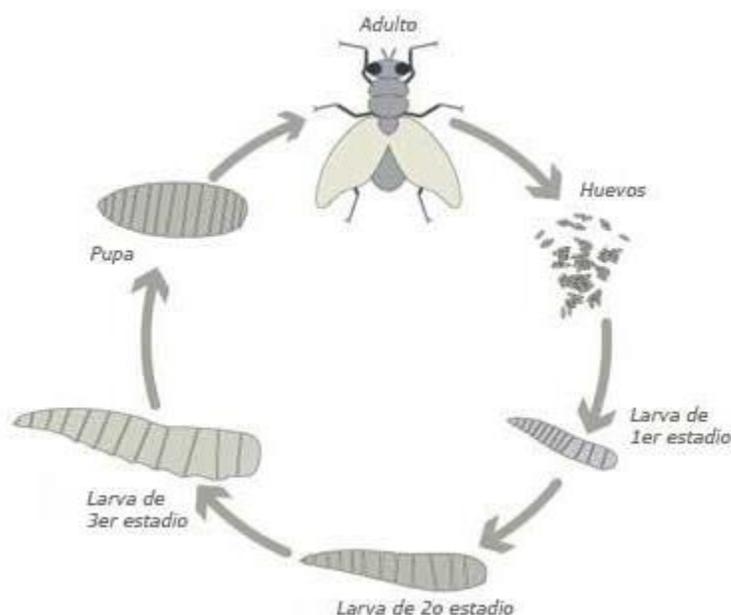


Figura 3.2 Ciclo de vida de la Musca domestica (Schlapbach, 2017).

La hembra puede colocar alrededor de 500 huevos. Las larvas se desarrollan en temperaturas cálidas, a lo largo de entre 4 y 13 días a una temperatura superior a los 32 °C, y hasta 30 días cuando las temperaturas rondan los 12 °C. Las larvas se convierten en pupas, que completan su desarrollo entre 2 y 6 días a temperaturas por encima de 32 °C. Este proceso puede alargarse hasta 27 días a una temperatura de 14 °C. La mosca adulta tiene una vida promedio de 15 a 25 días, pero puede alcanzar hasta 2 meses, según la disponibilidad de alimento (Sánchez, 2013)

Las moscas poseen un incremento de población durante el verano (de julio a setiembre) y son más activas en las horas más cálidas del día. Pueden volar hasta 24 km en una hora y su ámbito de dispersión puede variar según su ubicación. En zonas rurales su radio de vuelo puede ser de hasta 11 km, pero en zonas urbanas es menor, entre 27 y 1080 m, debido a la existencia de más alternativas de alimento y refugio. La población de moscas es mayor cuanto mayor sea la disponibilidad de recursos y la presencia humana, exhibiendo un territorio promedio de 400 metros cuadrados (Doctor, 2013)

Se ha encontrado la presencia de metales en moscas, en distintos estados de su ciclo de vida. Pero en moscas adultas la mayor acumulación de metales ocurre en la zona de su abdomen. La acumulación de mercurio en la *Musca domestica* se da en las células epiteliales que recubren su intestino medio en unas formaciones denominadas concreciones o granulomas (Beeby, 1991).

Estos dípteros presentan una alta resistencia a los efectos negativos producto de la intoxicación por metales pesados (Nourteva, 1982). Esta característica sitúa a estos insectos en extremos importantes de la red trófica: a un nivel superior, son vulnerables a la ingesta de metales pesados presentes en los tejidos que fagocitan. Pero también pertenecen a niveles más bajos de la misma cuando son consumidos por otros insectos, anfibios, peces, aves y reptiles (Harding, 2006). Tanto por su disponibilidad en ambientes urbanos, su nicho ecológico y su capacidad para acumular mercurio, en este trabajo se propone el uso de los individuos del género *Musca* como bioindicadores de contaminación.

3.2.3 Mercurio en Costa Rica

Desde el año 2015 la Dirección de Gestión de la Calidad Ambiental (DIGECA) trabajó con el Fondo Mundial para el Medio Ambiente (GEF) en la evaluación y participación de Costa Rica en el Convenio de Minamata, este esfuerzo se logra con la presentación del proyecto de Ley 9391 sobre el convenio Minamata a la Asamblea Legislativa.

El 16 de agosto del 2016 la Asamblea Legislativa de Costa Rica aprueba el Convenio de Minamata sobre el mercurio mediante la ley 9391, el mismo es ratificado por el Gobierno de la República el 07 de noviembre de 2016 y entra en vigor el 03 de enero de 2017 con la

publicación de la ratificación en el diario oficial la Gaceta Decreto N° 40053-RREE Ratificación del Convenio de Minamata sobre el mercurio, 07 de noviembre de 2016. Publicado en *La Gaceta Oficial* N° 2 del 03 de enero de 2017.

Varias universidades públicas y centros de investigación han realizado estudios que involucran al mercurio como actor principal creando así una base investigativa que es parte importante de lo estipulado en el Convenio de Minamata. En el 2017 se desarrolló un perfil nacional del uso del mercurio en Costa Rica como parte de un trabajo final de graduación en la Universidad de Costa Rica. Se identificó que el 70% de las fuentes de mercurio consideradas por el PNUMA existen en Costa Rica. Entre ellos se destacan: combustión de combustibles fósiles y biomasa, producción de energía geotérmica, extracción primaria de metales, minería artesanal de oro, producción de aluminio y materiales ferrosos, producción de cemento, producción de papel, producción de policloruros de vinilo, fabricación de explosivos, producción de poliuretano, producción de acetaldehído, instrumentación médica, baterías, equipos de laboratorio, pesticidas, pinturas, fármacos, cosméticos. En el cuadro 3.1 se resume una serie de hallazgos importantes que relacionan las cantidades de mercurio emitidas por diversos sectores en Costa Rica (Fernández, 2017).

Cuadro 3.1 Resumen de las estimaciones de mercurio producto de diversas actividades llevadas a cabo en Costa Rica. (Fernández, A. 2017).

<i>Actividad</i>	<i>Emisión estimada</i>	<i>Consideraciones</i>
<i>Consumo de combustibles fósiles</i>	20 kg	Estimación con base en el consumo de combustibles para el 2014.
<i>Biomasa como combustible</i>	75,3 kg	Estimación con base en la producción de energía geotérmica del 2014.
<i>Energía geotérmica</i>	11,1 kg	Estimación con base en el balance nacional de biomasa del 2014.
<i>Producción de cemento</i>	223,3 kg	Estimación con base en la producción de cemento del año 2014.
	147,6 kg	Estimación con base en los reportes operacionales de la industria cementera 2014.
<i>Residuos de fluorescentes</i>	41 kg	Mercurio total capturado por parte de los gestores autorizados para el tratamiento de desechos de fluorescentes en el 2014.
<i>Investigación y enseñanza en universidades</i>	157,5 kg	Mercurio equivalente calculado a partir de reactivos en stock para el año 2014.
	9,6 kg	Mercurio equivalente calculado a partir de equipos en uso, para el año 2014.
<i>Equipo de salud</i>	22,6 kg	Solo en termómetros despachados por la CCSS para las áreas de salud en 2014.
<i>Gestión de residuos sólidos</i>	204 261,8 kg	Total de estimaciones para los distintos tipos de disposición de residuos en Costa Rica, 2014.
<i>Descarga de aguas residuales</i>	12,6 kg	Estimación a partir de los efluentes industriales y hospitalarios reportados por los generadores de agua residual en 2014.
<i>Cementerios y Crematorios</i>	2,2 kg	Estimación calculada de mercurio emitido por la cremación de cadáveres en 2014.
	49,1 kg	Estimación calculada de mercurio emitido por el entierro de cadáveres en 2014.

Costa Rica no permite la minería a cielo abierto, pero cuenta con la figura legal de minería artesanal de oro en la zona de Abangares, donde se utiliza un proceso de amalgamación con mercurio. El mercurio de la amalgama es posteriormente vaporizado y el oro es recuperado. Considerando que existen alrededor de 700 mineros artesanales y cada uno consume un total de 7,2 kg de mercurio al año, se calcula un mínimo de 5 040 kg de mercurio emitidos por concepto de minería artesanal (DIGECA, 2021)

3.3 ASPECTOS ANALÍTICOS DE LA DETERMINACIÓN DE MERCURIO

3.3.1 Técnicas según la especie

Las técnicas para el muestreo de mercurio van a depender tanto del tipo de matriz como del tipo de especie que se desea identificar. La especie del mercurio define el nivel de toxicidad en el medio, en la figura 3.3 se clasifican las distintas formas de forma operativa para su análisis. Las sustancias extraíbles son las más tóxicas y por ende las más analizadas en contraposición al mercurio no extraíble que tiene un comportamiento inerte en el medio ambiente, en especial las especies no móviles.

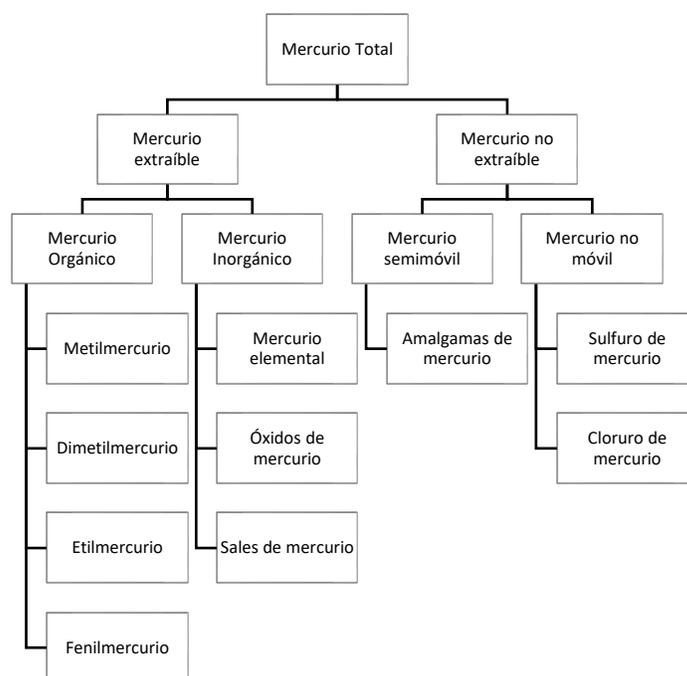


Figura 3.3 Especiación del mercurio definida operativamente.

Cuando se requiere determinar diferentes especies de mercurio, resulta apropiado el método el US-EPA 747. En este método primero se realiza una extracción con una mezcla de HCl 2% y Metanol 10% en baño ultrasónico, y luego una extracción en fase solida con fibra de algodón, de esta forma se obtienen los extraíbles orgánicos e inorgánicos. El residuo de la extracción es lavado para eliminar los cloruros y luego se digiere con ácido nítrico 2 mol/L a 95 °C por 20 minutos para cuantificar el mercurio semimóvil (Cortés, 2017).

El mercurio total puede analizarse sometiendo la muestra a una digestión ácida con ácido nítrico concentrado y algún agente oxidante, como permanganato de potasio, para

asegurar la oxidación de todas las especies de mercurio. Luego se trata con un agente reductor, como cloruro de estaño (II), para reducir el mercurio a su forma elemental y que pueda ser volatilizado y medido por alguna técnica espectrométrica (Ariza, 2019).

Independientemente del tipo de matriz debe asegurarse la revisión de ciertos aspectos:

1. Delimitación de la zona de estudio.
2. Empleo de instrumentación adecuada para la toma de muestras.
3. Implementos de seguridad para evitar que el muestreador se intoxique con mercurio o la contaminación de la muestra con mercurio (falso positivo)
4. Aplicar medidas de conservación para evitar que el mercurio se escape de la muestra o reaccione y se convierta en otras especies químicas que pueden no ser el propósito del estudio. Un resumen de estas medidas se encuentra en el cuadro 3.2.

Cuadro 3.2 Medidas de conservación de muestras para análisis de mercurio según el tipo de matriz (Ariza et al. 2019).

<i>Matriz</i>	<i>Medidas de conservación</i>
<i>Suelo y sedimento</i>	Almacenamiento en frascos previamente lavados con ácido. La muestra se debe homogeneizar y congelar hasta el momento del análisis. Se debe evitar dejar aire dentro del frasco. Si el suelo necesita ser secado es recomendable realizarlo por liofilización para evitar calentar la muestra.
<i>Agua</i>	Filtración con membrana para eliminar material particulado. Acidificación con ácido nítrico para preservar y evitar el crecimiento de microorganismos. Las muestras deben almacenarse a menos de 4 °C, a la oscuridad y en frascos PTFE o vidrio.
<i>Biota</i>	La muestra debe secarse a una temperatura no mayor a 40 °C en caso de ser necesario. La digestión para mercurio total debe realizarse con ácido nítrico concentrado

5. Elección de una técnica de análisis adecuado a las especies de mercurio que se desean estudiar.

Los muestreos de mercurio en aire tienen una orientación diferente pues las especies de mercurio en aire corresponden mayoritariamente a mercurio elemental gaseoso, mercurio oxidado y mercurio elemental fijado en partículas. Para la toma de muestras en aire suele

utilizarse muestreadores pasivos los cuales son dispositivos diseñados para que un material protegido de la intemperie pueda interactuar con el aire circundante, capturando mediante procesos de difusión pasiva el mercurio que se encuentra en el medio. Estos muestreadores pasivos suelen ser de diferentes materiales: filtros de oro, alambres de plata, tubos recubiertos de oro, carbón recubierto con oro o azufre, membranas de intercambio de iones o cartuchos rellenos con alguna disolución de oro. Estos muestreadores permiten evaluar concentraciones de mercurio entre 0,05 y hasta 67 ng/m³ de aire y con tiempos de muestreo variables dependiendo de las dimensiones y las condiciones atmosféricas como humedad, radiación solar o velocidad del viento (Huang, 2014).

Todos estos muestreadores pasivos posteriormente se someten a algún tratamiento químico para extraer el mercurio y medirlo mediante alguna técnica de análisis adecuada.

3.3.2 Técnicas de análisis

El mercurio puede analizarse mediante diferentes técnicas analíticas, la mayoría instrumentales. La elección de la técnica de análisis requiere considerar diferentes factores como el tipo de matriz y su degradabilidad, la especiación del mercurio (como puede verse en la figura 3.3.2.1), el nivel esperado de mercurio en la muestra, el tiempo disponible para análisis, costos, entre muchos otros. Los niveles de mercurio ubicados en el orden de las trazas van a requerir de técnicas más sensibles y específicas, así como el uso de equipo de mayor tecnología. Inclusive se necesitarán hasta pretratamientos de las muestras con la finalidad de concentrar la cantidad de mercurio contenida en la misma. Las técnicas mencionadas a continuación son las más utilizadas para determinar la presencia de mercurio en muestras ambientales (agua, aire, suelos y tejidos biológicos).

3.3.2.1 Espectrometría de absorción atómica con horno de grafito GFAAS

La espectroscopia de absorción atómica consiste en la nebulización de la muestra en una llama. De esta forma se consigue que los elementos permanezcan en estado fundamental mientras son atravesados con radiación de una lámpara compuesta del mismo elemento. La

absorción de esta radiación es lo que puede relacionarse con la concentración del elemento en la muestra. Para la atomización electrotérmica se hace uso de un horno de grafito calentado eléctricamente hasta unos 3000 °C, permitiendo una vaporización casi instantánea de la muestra y sirviendo a la vez de camino óptico para la determinación, brindando resultados más reproducibles y con una mayor sensibilidad (Cevallos, 2017) Pueden ocurrir pérdidas de mercurio por volatilización, por lo que se requiere la adición de estabilizadores o modificadores de matriz para prevenir las pérdidas. El límite de detección de mercurio en esta técnica es muy variable dependiendo de las condiciones del instrumento, puede ser desde 1 ng/g hasta 0,001 ng/g.

3.3.2.2 Espectrometría de emisión atómica con plasma ICP-AES

La técnica de plasma acoplado inductivamente consiste en la atomización de una muestra en una antorcha de plasma de argón. La muestra es ionizada, y los iones emiten radiación con sus longitudes de onda características que posteriormente pueden ser analizadas con una serie de dispositivos ópticos. Esta técnica permite analizar de forma simultánea muchos elementos y a niveles muy bajos, para el mercurio el límite de detección es 2 ng/mL. Esta técnica, sin embargo, presenta múltiples interferencias y efectos de matriz que pueden dar mediciones erróneas. En las mediciones de mercurio además se presenta un efecto de memoria que puede provocar desviaciones positivas en las cuantificaciones (Han, 2006).

3.3.2.3 Espectrometría de masas acoplada a plasma ICP-MS

El principio de esta técnica también utiliza una corriente de plasma sobre la cual la muestra es nebulizada. Los iones son acarreados por un sistema de bombas de vacío hasta un espectrómetro de masas, el cual consiste en un arreglo de cilindros a los que se les aplica un voltaje específico para el análisis. En el espectrómetro de masas los iones producidos en el plasma se pueden separar a partir de su relación carga/masa, la cual es característica para cada elemento, y enviar al detector los iones del elemento deseado. El detector emite una señal correspondiente con una concentración para cada elemento determinado, de esta forma

se pueden obtener límites de detección bajos y con menos interferencias, para el mercurio este límite corresponde a 0,1 ng/mL (Hintelmann, 2003).

3.3.2.4 Espectrometría de absorción atómica con vapor frío CVVAS

Este método permite la medición de concentraciones de mercurio sin la necesidad de utilizar una llama o algún atomizador como los métodos convencionales de absorción atómica en llama. La muestra se trata previamente para oxidar todo el mercurio contenido a su especie Hg^{2+} y posteriormente se reduce para formar su especie volátil Hg^0 . El mercurio elemental es arrastrado por un gas inerte hasta una celda de cuarzo donde se produce la medición por absorción atómica. Con un tratamiento de muestra sencillo y un límite de cuantificación de 0,01 – 0,05 ng/g es una de las técnicas más utilizadas (Murillo, 2013).

3.3.2.5 Espectrometría de fluorescencia atómica CV-AFS

La muestra tiene un tratamiento similar a la espectrometría de absorción atómica con vapor frío. Se genera la especie volátil de mercurio y esta es transportada por un gas inerte acarreador hasta la celda de medición. Los átomos del vapor de mercurio son excitados con luz ultravioleta para que emitan fluorescencia, la cual es medida por un detector colocado en perpendicular a la fuente de luz. Esta técnica puede ofrecer mayor sensibilidad que algunas técnicas basadas en absorción atómica, con un límite de detección de 0,08 ng Hg/mL (Astolfi, 2019).

3.3.2.6 Cromatografía por detección con espectrómetro de masas GC-MS/HPLC-MS

Las técnicas cromatográficas consisten en la separación de una mezcla de sustancias por la diferente afinidad que estas experimentan por una fase estacionaria (columna cromatográfica) y una fase móvil (eluyente). Esta diferencia de afinidad permite separar las sustancias mientras recorren la fase estacionaria, pues algunas son más afines a la misma quedándose más tiempo retenidas en la columna, mientras otras son más afines a la fase móvil siendo arrastradas con mayor facilidad por la columna. Las mezclas se pueden separar

variando las condiciones del instrumento como presión, flujo y temperatura, lo cual se refleja en diferentes tiempos de retención que es el tiempo que demora una sustancia en atravesar la columna (Kerstin, 2010).

La cromatografía de gases utiliza como fase móvil un gas inerte, posee una cámara donde la muestra se inyecta y es volatilizada para que posteriormente el gas la transporte por la columna y suceda la separación. La cromatografía líquida utiliza un disolvente líquido como fase móvil, en este caso la muestra es aspirada por una bomba que la coloca en el flujo de la fase móvil y es transportada a la columna donde ocurre la separación. Ambas técnicas utilizan múltiples detectores al finalizar la columna que son sistemas capaces de registrar los átomos o moléculas y generar una señal consecuente con la concentración de cada sustancia,

Los métodos cromatográficos permiten la cuantificación de las especies de mercurio que por otras técnicas no pueden obtenerse puesto que solo miden el mercurio total, sin embargo, las muestras requieren un pretratamiento más elaborado con la finalidad de poder extraer y preservar las especies de mercurio hasta el momento de la medición. El límite de detección para cualquiera de estas técnicas acoplada a un espectrómetro de masas es de 0,1 ng/g (Berzas, 2011).

3.3.2.7 *Analizador de mercurio*

Existen analizadores diseñados para medir mercurio directamente. Estos analizadores tratan la muestra térmicamente a temperaturas mayores a 800 °C y con un flujo de oxígeno, para descomponer la materia orgánica. El mercurio contenido en la muestra es atomizado y acarreado por el oxígeno hasta un tubo colector con amalgama de oro. Cuando la muestra es consumida en su totalidad, el tubo colector es calentado nuevamente para vaporizar el mercurio el cual se mide por espectroscopía de absorción atómica. Estos analizadores proveen límites de detección del orden de milésimas de nanogramo y al utilizar curvas de calibración poseen coeficientes de correlación mayores al 0,999 volviendo a estos instrumentos altamente sensibles y reproducibles (Marcinek-Jacel, 2017).

3.3.2.8 Análisis elemental por microscopía SEM/EDS XAS

La microscopía electrónica SEM se basa en un barrido de la superficie de un material con un haz de electrones emitido por un cátodo de tungsteno y enfocado en la muestra por una serie de lentes electromagnéticas. Los electrones al chocar con la superficie analizada son dispersados y esto permite al detector obtener una imagen en relieve del material. La dispersión de los electrones va a depender de la cantidad de protones de cada átomo y por lo tanto es posible diferenciar la composición. Se generan rayos x por el bombardeo electrónico permiten identificar los elementos presentes y su concentración gracias a un analizador elemental (Conceicao, 2021).

4 MATERIALES Y MÉTODOS

Originalmente se decidió seguir la metodología de Harding (2006) que consiste en una digestión ácida a temperatura ambiente para el análisis de muestras de mercurio por la técnica de absorción atómica. Sin embargo, el proceso de digestión demoraba al menos 4 semanas y luego las muestras debían ser filtradas para poder analizarse mediante espectrometría de absorción atómica.

Gracias al aporte del Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas (IRET) se decidió realizar las mediciones directamente utilizando un analizador de mercurio. Los analizadores de mercurio son técnicas novedosas, nacidas a raíz de la necesidad de contar con equipos para análisis y monitoreo de la contaminación por mercurio desde la implementación del Convenio de Minamata. Proveen tiempos de respuesta rápido y la muestra no necesita pretratamiento lo que permite ahorrar tiempo y reactivos, de ahí a la escogencia de la técnica.

Se decidió seguir el protocolo de trabajo del IRET en cuanto al uso del analizador de mercurio, esto involucra:

- La generación de una curva de calibración utilizando un patrón de mercurio.
- La medición directa de las muestras utilizando una masa o un volumen conocido de muestra que se debe colocar en los pocillos de porcelana.

Se definió entonces una curva de calibración en el ámbito de 10 ng Hg hasta los 1000 ng Hg aproximadamente, siguiendo las recomendaciones de los expertos del IRET. Posteriormente se tuvo la necesidad de generar curvas en un rango mayor y menor al primer rango definido, pues algunas de las muestras tenían concentraciones por encima o por debajo de los límites establecidos. En vista que la medición se realiza de forma directa, las muestras no requieren de pretratamiento alguno y solo son colocadas en los pocillos de porcelana directamente para su medición

4.1 LUGAR DE ESTUDIO

Se definió el lugar de estudio como parte del Área Metropolitana de San José. Los puntos de muestreo se eligieron con base en algunos criterios que permitieran una fácil toma de muestras, entre ellos:

1. Fácil acceso mediante transporte público o caminando
2. Zona segura.
3. Lugares de venta de comidas cerca (fuentes de alimentación para las moscas)
4. Sitios alejados al menos 1000 m entre sí (distancia esperada de radio de vuelo de la mosca)

Se eligieron tres (3) zonas para el primer muestreo, como se aprecia en la figura 4.1.: Barrio Aranjuez en San José, Barrio Saprissa en San Pedro, Barrio La Gloria en Zapote

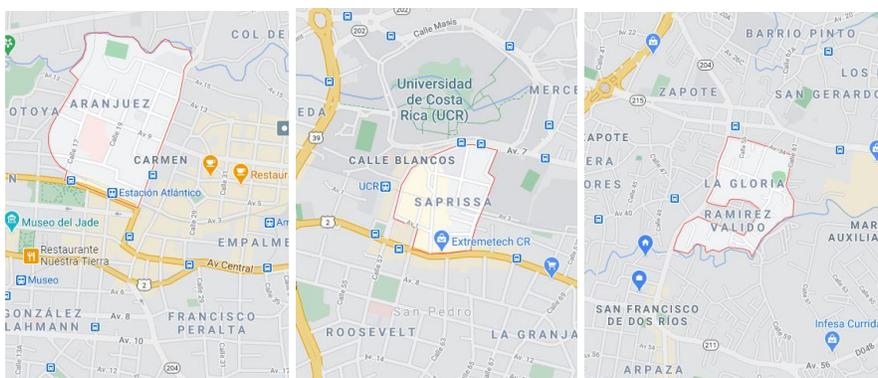


Figura 4.1 Barrios josefinos elegidos para el muestreo #1. Imágenes tomadas de Google Maps.

Para el segundo muestreo se eligieron 5 puntos como se aprecia en la figura 4.2: Barrio Aranjuez en San José, Barrio Saprissa en San Pedro, Barrio La Gloria en Zapote y Sánchez de Curridabat.

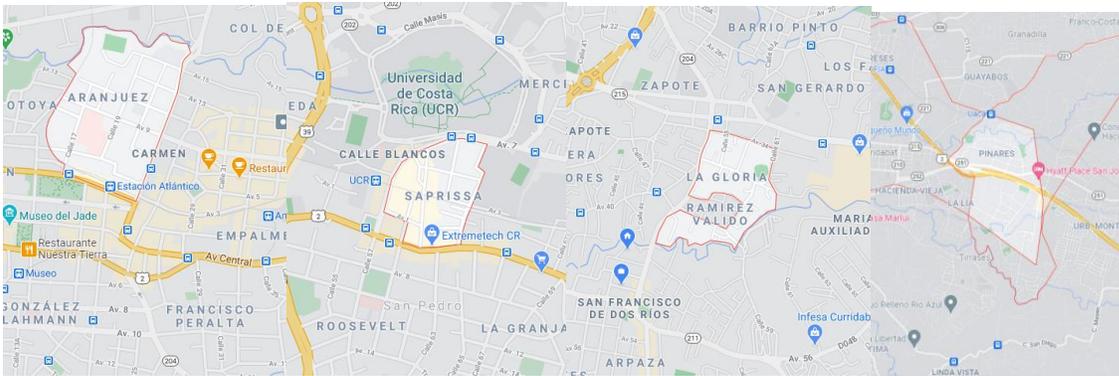


Figura 4.2 Barrios josefinos elegidos para el muestreo #2. Imágenes tomadas de Google Maps.

Además, se estableció un punto de control en Occidental Central Cartago, como se puede ver en la figura 4.3.



Figura 4.3 Sitio de muestra control ubicado en la zona de Cartago. Imagen tomada de Google Maps.

4.2 RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

Las muestras de moscas se recolectaron utilizando redes para insectos. Se procedió a recolectar un mínimo de 20 individuos entre las 9:00 y las 15:00, en días soleados que es cuando las moscas se encuentran más activas. Las muestras fueron colocadas en frascos estériles y colocadas bajo refrigeración por debajo de 0°C hasta su medición directa en el analizador de mercurio.

4.3 MUESTRAS DE CONTROL DE MOSCAS

Se realizó una prueba de control y para ello se seleccionó un punto de muestreo fuera del área de estudio, en la zona de Cartago. En este punto se colocaron tres criaderos con larvas de moscas que se alimentaron hasta completar su ciclo de vida. La alimentación de estas moscas consistió en desperdicios de comida. Los criaderos, tal y como se observan en la figura 4.4 se ubicaron en un espacio de buena ventilación y los mismos poseían una malla que permitía el paso del aire, pero impedía la salida de las larvas o ingreso de otros insectos. Las muestras se recolectaron y se almacenaron en frascos estériles bajo refrigeración hasta su medición directa en el analizador de mercurio.



Figura 4.4 Criaderos para la población control.

Además, se recolectaron moscas de la zona occidental de Cartago con la finalidad de tener datos de mercurio para la zona donde se realizó la prueba de control.

4.4 ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS

Las mediciones de mercurio se realizaron en un analizador de mercurio Nippon MA-3000. El instrumento realiza una combustión térmica de la muestra para vaporizar el mercurio, el cual es amalgamado con oro. Posteriormente la amalgama se calienta para que ocurra la desorción del mercurio el cual se pasa a una celda donde se realiza la medición por espectroscopía de absorción atómica a una longitud de onda de 253.7 nm, tal y como lo

muestra el diagrama de la figura 4.5. Cabe destacar que esta técnica es un ensayo de carácter destructivo lo cual implica que la muestra es consumida en su totalidad durante el análisis.

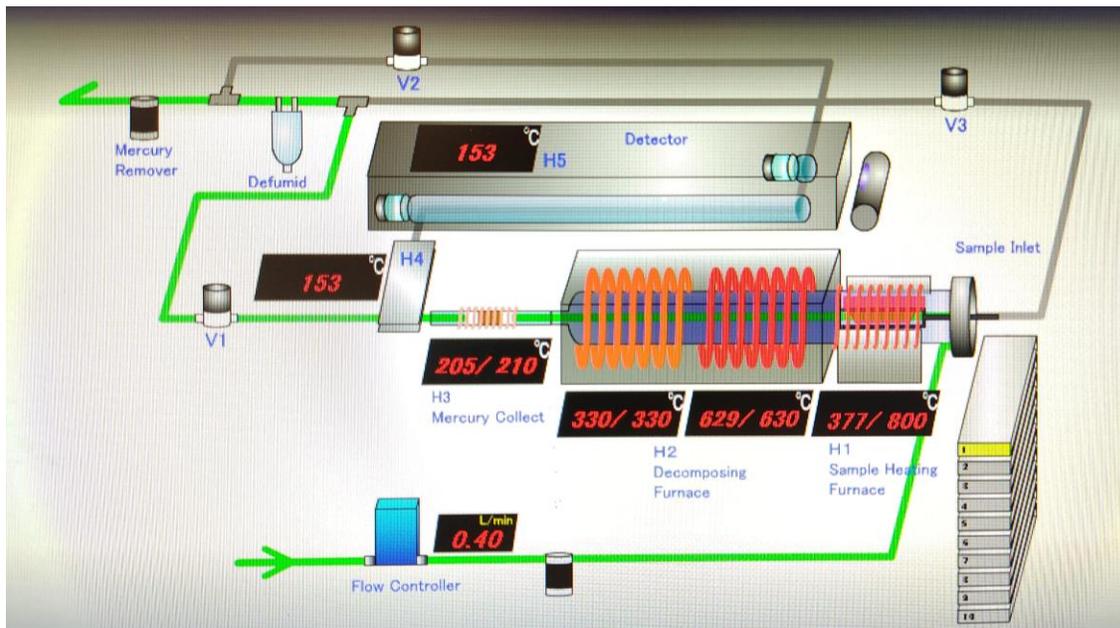


Figura 4.5 Diagrama de funcionamiento del analizador de mercurio Nippon MA-3000. Foto de la pantalla de control del instrumento.

El IRET utiliza una curva de calibración con un patrón de mercurio en disolución de L-cisteína para los ensayos de mercurio. La regresión se realizó con un nivel de confianza del 95%. Tanto los patrones para la curva de calibración como las muestras (de una masa o volumen conocido) deben colocarse en pocillos de porcelana en los racks del equipo.

Siguiendo las recomendaciones operacionales brindadas por el centro se realizaron dos curvas de calibración con un patrón de Mercurio en disolución de L-cisteína 100 mg/L como disolvente. La curva se realizó desde 0,27 ng Hg hasta 2,7 ng Hg. Posteriormente se tuvo la necesidad de generar una curva a un rango mayor para algunas muestras, esta se realizó hasta los 10280 ng.

Para las muestras se dividieron las moscas en cuantas réplicas fueran posibles, con al menos dos (2) réplicas para cada muestra. La cantidad de moscas fue variable debido a los diferentes pesos y tamaños de los individuos, sin embargo, se colocaron masas de entre 10 mg y 100 mg hasta alcanzar la máxima capacidad de la celda.



Figura 4.6 Muestras de moscas colocadas para su medición en los pocillos de muestra.

Tanto las muestras como la curva se colocaron en el auto muestreador para su medición.

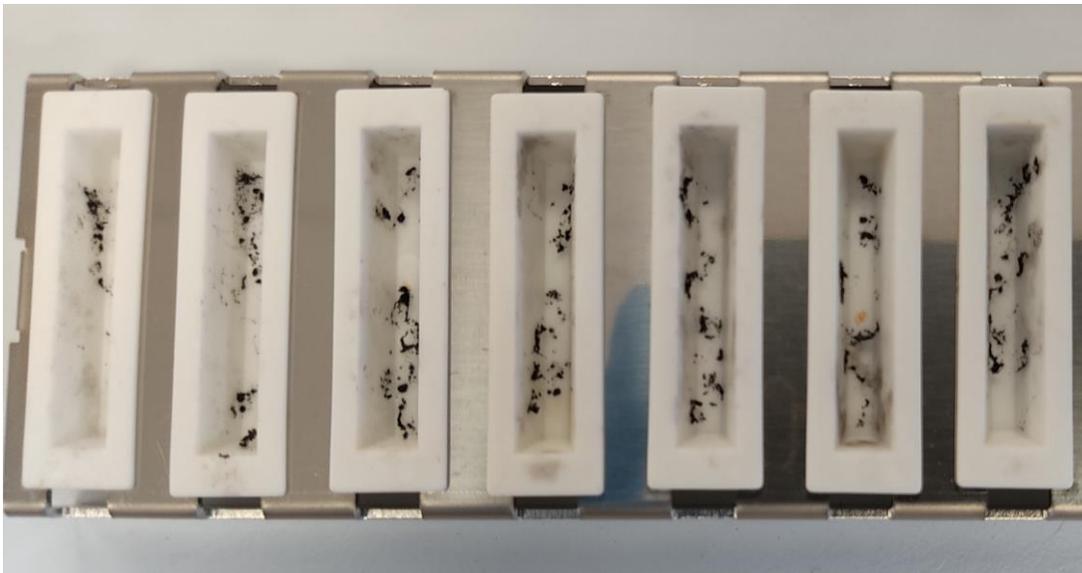


Figura 4.7 Residuo de cenizas producto de la medición de las moscas en el Nipon MA-3000

4.4.1 Análisis SEM/EDS

Se siguió el protocolo brindado por el Laboratorio Institucional de Microscopía (LIM) el cual consta de los siguientes pasos:

1. Se coloca la muestra de mosca previamente deshidratada sobre un portamuestras de aluminio con ángulo de 22° , ángulo definido para la detección del equipo.
2. Se introduce la muestra en el microscopio SEM marca Hitachi, modelo TM-1000 con detector elemental.
3. El análisis de datos se realiza mediante el software QUANTAX

5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 MUESTREO #1

El Cuadro 5.1 muestra los resultados para la elaboración de la curva de calibración #1 para las muestras de moscas del primer muestreo a partir del estándar de mercurio. Este muestreo se realizó entre noviembre de 2019 y enero de 2020. La figura 5.1 muestra la linealidad de la curva de calibración #1.

Cuadro 5.1 Elaboración de la curva de calibración #1 de 8 ng Hg hasta 1044 ng Hg.

# Patrón	Concentración (ug/mL)	Alícuota (mL)	Cantidad Hg (ng)	Señal (Area-High)
1	0,04	0,200	8	0,02120
2	0,09	0,200	18	0,04266
3	0,17	0,200	34	0,08650
4	0,34	0,200	68	0,17875
5	0,64	0,200	128	0,33883
6	1,67	0,200	334	0,87947
7	3,13	0,200	626	1,61938
8	5,22	0,200	1044	2,72522

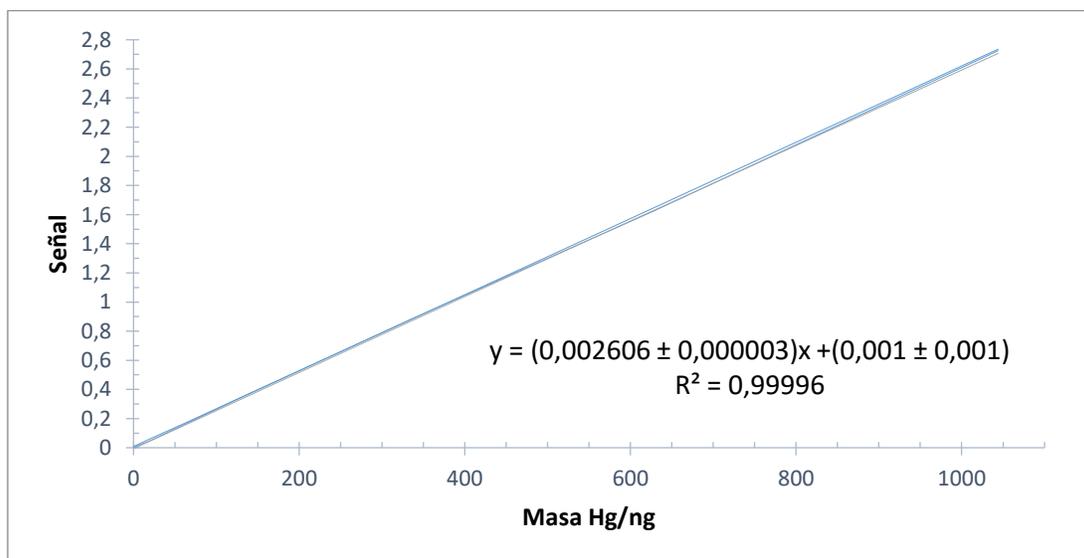


Figura 5.1 Curva de calibración #1 para muestras en un ámbito de concentraciones de 8 ng Hg hasta 1044 ng Hg.

A partir del análisis estadístico se obtuvo la ecuación 1 como ecuación de recta para relacionar el contenido de mercurio y la señal.

$$\text{Señal} = [0,00261 \pm 0,00002] * \text{Contenido de Hg (ng)} + [0,000 \pm 0,008]$$

Ecuación 1

Se obtuvo también un coeficiente de determinación $R^2 = 0,99996$ para la curva de calibración #1 por lo que los intervalos de confianza caen prácticamente sobre la recta y se puede decir que hay una buena capacidad predictiva por parte de este modelo lineal para las concentraciones interpoladas.

El cuadro 5.2 muestra las concentraciones de mercurio obtenidas para las muestras de moscas del primer muestreo.

Cuadro 5.2 Concentración de mercurio obtenido en las muestras de moscas utilizando la curva de calibración #1

<i>Muestra</i>	<i>Réplica</i>	<i>Masa (mg)</i>	<i>Señal</i>	<i>Contenido de Hg (ng)</i>	<i>Concentración (mg Hg/kg)</i>
<i>Zapote #1 Nov-2019</i>	1	34,55	1,12236	430,0	12,45
	2	21,91	0,11822	45,3	2,07
	3	24,87	0,03400	13,0	0,52
<i>Zapote #2 Dic-2019</i>	1	30,77	0,05586	21,4	0,70
	2	23,75	0,10105	38,7	1,63
<i>Zapote #3 Ene-2020</i>	1	21,84	0,14980	57,4	2,63
	2	23,00	0,01007	3,9	0,17
<i>San Pedro #1 Nov-2019</i>	1	26,81	0,15743	60,3	2,25
	2	24,44	0,27725	106,2	4,35
	3	17,87	0,01933	7,4	0,41
	4	13,77	0,02169	8,3	0,60
<i>San Pedro #2 Dic-2019</i>	1	24,50	0,14939	57,2	2,34
	2	20,02	1,10103	421,9	21,07
	3	18,17	0,12343	47,3	2,60
<i>San Pedro #3 Ene-2020</i>	1	22,11	0,06767	25,9	1,17
	2	29,65	0,28509	109,2	3,68

Identificar la acumulación de mercurio en insectos sarcosaprófagos es importante pues se ha reconocido que los residuos sólidos son fuentes de mercurio y este es ingerido por las moscas y sus larvas, las cuales luego se integran a la cadena trófica por lo tanto se

convierten en vectores de mercurio para otros organismos. Esto debido a que la biomagnificación de los metales pesados se da en los diferentes niveles tróficos influenciada por la estructura de la red alimenticia y las interacciones entre la función ecológica de los diversos organismos como depredación y competencia (Zhang, 2021). De este primer muestreo puede observarse que los valores de mercurio son elevados, pues se habla del orden de mg Hg/kg masa de moscas. En estudios anteriores se han encontrado valores de hasta 62,4 mg Hg/ kg en algunas especies de moscas, e incluso a esas concentraciones tan elevadas reporta especímenes sanos (Nourteva, 1982).

Un grupo de muestras presentó niveles de mercurio que excedían el valor máximo de la curva anterior, por lo tanto, se realizó una segunda curva de calibración para valores por encima de los 600 ng Hg.

El Cuadro 5.3 muestra la elaboración de la curva de calibración #2 para las muestras de moscas del primer muestreo a partir del estándar de mercurio, cuando eran mayores al rango de la curva #1. La figura 5.2 muestra la recta obtenida para la curva de calibración #2.

Cuadro 5.3 Elaboración de la curva de calibración #2 de 626 ng Hg hasta 10280 ng Hg.

# Patrón	Concentración (ug/mL)	Alícuota (mL)	Cantidad Hg (ng)	Señal (Area-High)
1	3,13	0,200	626	1,65648
2	5,22	0,200	1044	2,73706
3	15,3	0,200	3060	7,00156
4	25,6	0,200	5120	12,40854
5	36,1	0,200	7220	16,50092
6	51,4	0,200	10280	22,11337

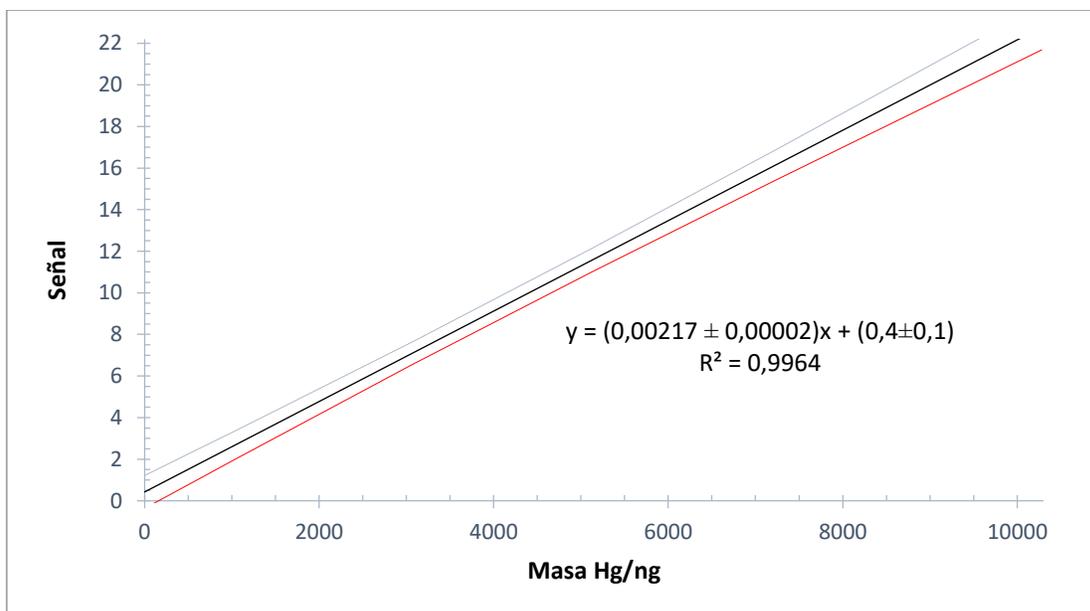


Figura 5.2 Curva de calibración #2 para muestras en un ámbito de concentraciones de 626 ng Hg hasta 10280 ng Hg.

A partir del análisis estadístico se obtuvo la ecuación 2 como ecuación de recta para relacionar el contenido de mercurio y la señal.

$$\text{Señal} = [0,0021 \pm 0,0002] * \text{Contenido de Hg (ng)} + [1 \pm 1]$$

Ecuación 2

Se obtuvo también un coeficiente de correlación $R^2 = 0,9964$ para la curva de calibración #2. En esta curva al obtener un coeficiente de determinación más alejado de la unidad se observa como los intervalos de confianza son más amplios y por lo tanto la capacidad predictiva del modelo lineal tiene una mayor incertidumbre. Con esta recta de calibración, se procesaron las muestras correspondientes al punto central de San José, los resultados se encuentran en el cuadro 5.4.

Cuadro 5.4 Concentración de mercurio obtenido en las muestras de moscas utilizando la curva de calibración #2

<i>Muestra</i>	<i>Réplica</i>	<i>Masa (mg)</i>	<i>Señal</i>	<i>Contenido de Hg (ng)</i>	<i>Concentración (g Hg/kg)</i>
<i>San José #1 Dic-2019</i>	1	30,62	60,69606	28427	0,928
	2	33,12	60,43724	28303	0,855
	3	36,21	53,79459	25140	0,694
	4	31,14	55,32139	25867	0,831
<i>San José #2 Dic-2019</i>	1	22,42	46,33225	21587	0,963
	2	22,34	70,24136	32972	1,476
	3	24,61	65,16160	30553	1,241
	4	47,30	66,10108	31001	0,655
<i>San José #3 Dic-2019</i>	1	21,86	25,48697	11660	0,533
	2	33,76	24,93504	11398	0,338
	3	24,65	71,02569	33346	1,353
	4	17,34	69,33802	32542	1,877

En las moscas de Zapote se encontró valores desde 0,17 mg Hg/kg hasta 12,45 mg Hg/kg y en San Pedro desde 0,41 mg Hg/kg hasta 21,07 mg Hg/kg. Estos valores se colocan por debajo del máximo encontrado por Nourteva (1984) para sus experimentos. Sin embargo, en las moscas de la zona central de San José se encontraron valores sumamente elevados de mercurio en comparación a los anteriores, estos valores se determinaron entre 338 mg Hg/kg y hasta 1877 mg Hg/kg.

Cuadro 5.5 Resumen de resultados para el primer muestreo de mercurio en moscas realizado entre noviembre de 2019 y enero de 2020.

<i>Punto</i>	<i>Número de mediciones</i>	<i>Concentración promedio mg Hg/kg</i>	<i>Desviación estándar</i>	<i>Ámbito de concentraciones mg Hg/kg</i>
<i>Zapote</i>	7	2,9	4,0	0,17 – 12
<i>San Pedro</i>	9	4,3	6,1	0,41 – 21
<i>Aranjuez</i>	12	979	418	338 – 1877

Las concentraciones encontradas en Zapote y San Pedro se encuentran en un rango de magnitud similar, sin embargo, las muestras tomadas en San José se encuentran en un nivel muy superior de contaminación. Para todas las muestras en general existe una alta variabilidad de los datos, esto se puede justificar debido a que cada individuo que es parte de

una muestra tiene un comportamiento diferente a lo largo de su vida y por lo tanto la ingesta de mercurio es diferente según su desarrollo.

La diferencia entre las zonas de rangos bajos y la zona de rango alto podría explicarse por alguna causa puntual de contaminación con mercurio en ésta última. No obstante, en vista de no contar con mediciones ambientales de mercurio de otra naturaleza (matrices de aire, suelo, agua) durante el muestreo de las moscas es imposible determinar una posible causa para este hallazgo. La zona donde se tomaron estas muestras es cercana al Hospital Calderón Guardia y la Clínica Central, los cuales son centros médicos que pueden tener un mayor acceso a mercurio y por lo tanto a producir flujos de este metal al medio ambiente producto del descarte de instrumentación médica o residuos de sustancias con alto contenido de mercurio como las amalgamas dentales. Por ejemplo, sólo en Canadá la incineración de residuos médicos representa el 9% de sus emisiones anuales de mercurio a la atmósfera (Winfield, 2015).

5.2 MUESTREO #2

El Cuadro 5.6 muestra la elaboración de la curva de calibración #3 para las muestras de moscas del segundo muestreo a partir del estándar de mercurio. Este muestreo se realizó entre Abril de 2020 y Junio de 2020. La figura 5.3 muestra la recta obtenida para la curva de calibración #3.

Cuadro 5.6 Elaboración de la curva de calibración #3 de 6,4 ng Hg hasta 808 ng Hg.

# Patrón	Concentración (ug/mL)	Alícuota (mL)	Cantidad Hg (ng)	Señal (Area-High)
1	0,03	0,200	6,4	0,02120
2	0,04	0,200	7,6	0,04266
3	0,13	0,200	27	0,08650
4	0,27	0,200	53	0,17875
5	0,50	0,200	99	0,33883
6	1,30	0,200	259	0,87947
7	2,43	0,200	486	1,61938
8	4,04	0,200	808	2,72522

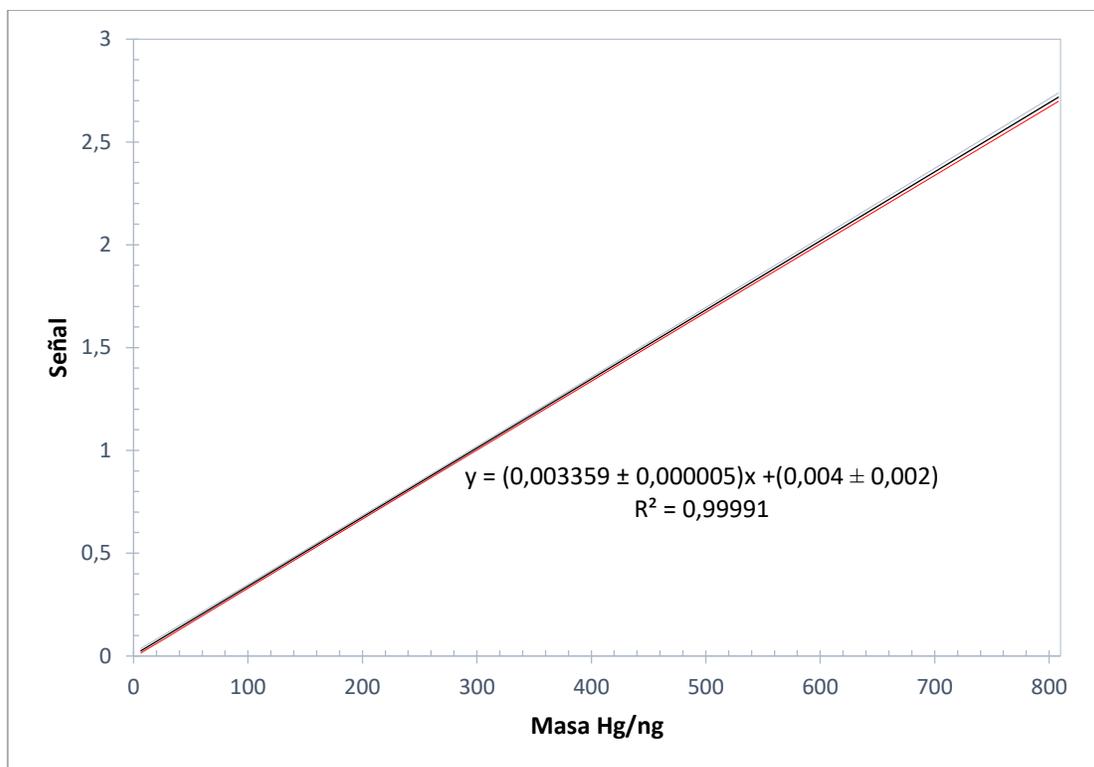


Figura 5.3 Curva de calibración #3 para muestras en un ámbito de concentraciones de 6,4 ng Hg hasta 808 ng Hg.

A partir del análisis estadístico se obtuvo la ecuación 3 como ecuación de recta para relacionar el contenido de mercurio y la señal.

$$\text{Señal} = [0,00336 \pm 0,00003] * \text{Contenido de Hg (ng)} + [0,00 \pm 0,01]$$

Ecuación 3

Se obtuvo también un coeficiente de determinación $R^2 = 0,99991$ para la curva de calibración #3, para esta curva también los intervalos de confianza son muy cercanos a la recta y se puede decir que hay una buena capacidad predictiva por parte de este modelo lineal para las concentraciones interpoladas.

La mayoría de las muestras presentaron niveles de mercurio por debajo del límite de cuantificación de la curva anterior, por lo tanto, se realizó una segunda curva de calibración para valores por debajo de 6 ng.

El Cuadro 5.7 muestra la elaboración de la curva de calibración #4 para las muestras de moscas del primer muestreo a partir del estándar de mercurio, cuando eran mayores al rango de la curva #3. La curva obtenida puede visualizarse en la figura 5.4.

Cuadro 5.7 Elaboración de la curva de calibración #4 de 0,27 ng Hg hasta 6,37 ng Hg.

# Patrón	Concentración (ug/mL)	Alícuota (mL)	Cantidad Hg (ng)	Señal (Pico-High)
1	0,001	0,200	0,27	0,009255
2	0,003	0,200	0,56	0,021866
3	0,007	0,200	1,36	0,047300
4	0,014	0,200	2,70	0,064765
5	0,032	0,200	6,37	0,184416

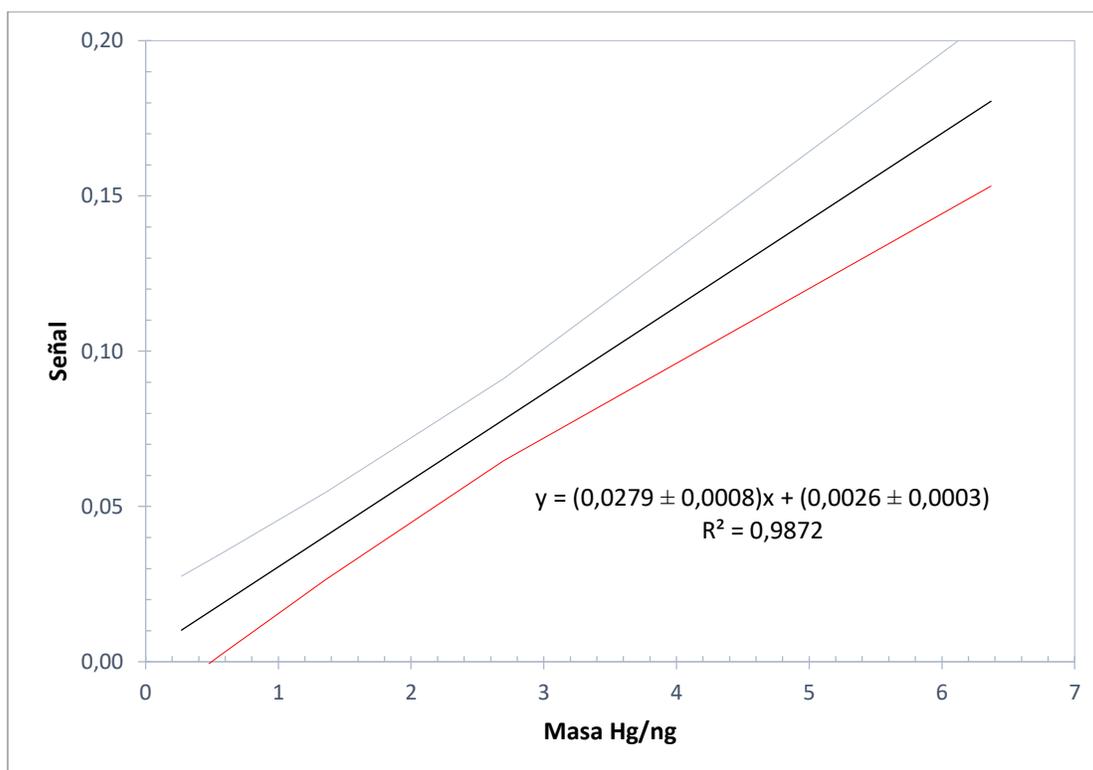


Figura 5.4 Curva de calibración #4 para muestras en un ámbito de concentraciones de 0,27 ng Hg hasta 6,37 ng.

A partir del análisis estadístico se obtuvo la ecuación 4 como ecuación de recta para relacionar el contenido de mercurio y la señal.

$$\text{Señal} = [0,028 \pm 0,006] * \text{Contenido de Hg (ng)} + [0,00 \pm 0,02]$$

Ecuación 4

Se obtuvo también un coeficiente de determinación $R^2 = 0,987$ para la curva de calibración #4, en vista que este coeficiente de determinación no es tan cercano a la unidad como los de las curvas anteriores, los límites de confianza son más amplios y por lo tanto hay mayor incertidumbre en las predicciones para la concentración de mercurio. Este coeficiente de determinación más bajo en comparación con las otras curvas de calibración puede estar relacionado con el uso de menos puntos, lo cual se asocia con un mayor error en la regresión lineal. Con la ecuación de recta obtenida se pudo determinar la concentración de mercurio para las muestras correspondientes al segundo muestreo y que no se pudieron calcular a partir de la curva de calibración #3, estos valores se observan en el cuadro 5.7.

Cuadro 5.8 Concentración de mercurio obtenido en las muestras de moscas para el muestreo #2

<i>Muestra</i>	<i>Réplica</i>	<i>Masa (mg)</i>	<i>Señal</i>	<i>Contenido Hg (ng)</i>	<i>Concentración (µg Hg/kg)</i>
<i>Cartago #1 Abr-2020</i>	1	37,01	0,004190	< LC	---
	2	48,56	0,004004	< LC	---
	3	35,13	0,004652	< LC	---
<i>Cartago #2 Jun-2020</i>	1	67,74	0,008393	0,30	4,4
	2	123,07	0,004255	< LC	---
<i>Curridabat #1 Abr-2020</i>	1	18,6	0,006237	< LC	---
	2	21,21	0,012076	0,43	20,3
	3	33,64	0,014138	0,50	15,0
<i>Curridabat #2 Set-2019</i>	1	20,8	0,004499	< LC	---
	2	19,1	0,003941	< LC	---
	3	15,45	0,004210	< LC	---
<i>Zapote #1 May-2020</i>	1	57,47	0,005098	< LC	---
	2	78,9	0,002463	< LC	---
	3	69,45	0,036041	1,29	18,5
<i>Zapote #2 Jun-2020</i>	1	65,47	0,041892	1,50	22,9
	2	60,87	0,008671	0,31	5,1
	3	58,82	0,003953	< LC	---
<i>San José #1 May-2020</i>	1	55,22	0,004615	< LC	---
	2	64,68	0,030142	1,08	16,6
	3	71,6	0,017786	0,64	8,9
<i>San José #2 Jun-2020</i>	1	76,85	0,040045	1,43	18,6
	2	86,34	0,027354	0,98	11,3
	3	79,65	0,013241	0,47	5,9
<i>San Pedro #1 May-2020</i>	1	44,77	0,008730	0,31	7,0
	2	49,45	0,013023	0,47	---
	3	49,64	0,002824	< LC	---
<i>San Pedro #2 Jun-2020</i>	1	62,7	0,007508	< LC	---
	2	52,61	0,003550	< LC	---
	3	44,6	0,002538	< LC	---

Además, para el segundo muestreo se recolectaron muestras en la zona de Cartago con la finalidad de tener valores contra los cuales comparar los datos obtenidos para el Área Metropolitana de San José. Los resultados obtenidos para cada muestra se encuentran tabulados en el cuadro 5.8 y en el cuadro 5.9 se encuentra el resumen de resultados correspondiente al segundo muestreo.

Cuadro 5.9 Resumen de resultados para el segundo muestreo de mercurio en moscas realizado entre abril y junio de 2020.

<i>Punto</i>	<i>Número de mediciones</i>	<i>Concentración Promedio µg Hg/kg</i>	<i>Desviación estándar</i>	<i>Ámbito de concentraciones µg Hg/kg</i>
<i>Cartago</i>	5	< L.C.	---	---
<i>Curridabat</i>	6	18,0	2,7	15,0 – 20,0
<i>Zapote</i>	6	16,0	7,6	5,1 – 23
<i>San Pedro</i>	6	< L.C.	---	---
<i>Aranjuez</i>	6	12,0	4,7	5,9 – 18,6

Muchas de las muestras reportaron valores menores a las muestras obtenidas durante el primer muestreo, incluso valores no cuantificables lo cual puede deberse a la pandemia por COVID-19 que atravesó el país e incidió en dos situaciones:

1. Las restricciones aplicadas durante la época influyeron en una menor cantidad de desperdicios en las calles y zonas públicas. Menos alimento disponible para las moscas y por lo tanto menos ingesta de posibles alimentos con contenido de mercurio.
2. El retraso existente entre la toma de muestras y las mediciones realizadas en el laboratorio pudo provocar la pérdida de mercurio en el tejido de las moscas debido a la descomposición por microorganismo. Durante el primer muestreo la separación entre la toma de muestras y el análisis no fue mayor de 3 meses. Sin embargo, para el segundo muestreo la separación fue de hasta 10 meses. Aunque las muestras se mantuvieron en congelación durante ese tiempo de espera, la descomposición no se puede detener por completo y durante este proceso se dan reacciones químicas que cambian la especiación del mercurio produciendo sus especies volátiles las cuales dejan de estar integradas en la biomasa (Pokharel, 2011).

Cuadro 5.10 Concentración de mercurio para las moscas control de los criaderos, sus larvas y el sustrato con el que fueron alimentadas.

<i>Muestra</i>	<i>Réplica</i>	<i>Masa (mg)</i>	<i>Señal</i>	<i>Contenido Hg (ng)</i>	<i>Concentración (µg Hg/kg)</i>
<i>Criadero #1</i>	1	35,03	0,166637	5,95	169,9
<i>Abr-2020</i>	2	46,54	0,049916	1,78	38,3
<i>Criadero #2</i>	1	50,7	0,022621	0,81	15,9
<i>Abr-2020</i>	2	50,22	0,019419	0,69	13,8
<i>Criadero #3</i>	1	58,47	0,023294	0,83	14,2
<i>Abr-2020</i>	2	28,7	0,011294	0,40	14,1
	1	55,37	0,01339	0,48	8,6
<i>Larvas</i>	2	210,23	0,019237	0,69	3,3
<i>Abr-2020</i>	3	54,39	0,020954	0,75	13,8
	4	239,6	0,011154	0,40	1,7
<i>Sustrato #1</i>	1	168,64	0,007925	0,28	1,7
	2	257,95	0,019126	0,68	2,6
<i>Sustrato #2</i>	1	581,92	0,019226	0,69	1,2
	2	154,44	0,011439	0,41	2,6
<i>Sustrato #3</i>	1	306,55	0,006734	0,24	0,8
	2	489,75	0,003756	< LC	---

Se encontró mercurio en la población control, en valores desde 8,6 µg Hg/kg hasta los 169,9 µg Hg/kg. Este mercurio estaba presente desde las larvas que se compraron para generar la población control pues estas también presentaron mercurio en valores de 1,7 µg Hg/kg hasta 13,8 µg Hg/kg. Es importante destacar que estas larvas fueron sustraídas desde el inicio del experimento y por eso se esperaba que sus contenidos de mercurio fueran menores a los de la población control adulta, lo cual es el fenómeno observado. Los metales pesados ingeridos por larvas de insectos holometábolos, como la mosca, se acumulan en sus cuerpos y posteriormente en sus tejidos adultos de ahí que la alimentación y el entorno jueguen un papel determinante en el aumento de mercurio a lo largo del ciclo de vida de la mosca (Tylko, 2005).

Al analizar las moscas adultas de los criaderos, se esperaba que su contenido de mercurio fuera menor que el registrado para las larvas pues existen procesos fisiológicos que permiten al insecto deshacerse del mercurio ingerido. La evidencia científica señala que existen dos procesos posibles para esto:

1. Eliminación en las heces del insecto: Los insectos forman gránulos cálcicos en su sistema digestivo, algunos de los cuales son excretados durante los procesos

fisiológicos normales de las larvas. Esto reduce la carga de metales que el insecto acumula en su sistema digestivo (Khan, 2012).

2. Eliminación durante el holometabolismo del insecto: Los lisosomas celulares forman gránulos con altos contenidos de metales, los cuales se excretan de las entrañas de los insectos junto con otra gran cantidad de materia corporal durante su metamorfosis, con la finalidad de desintoxicar al mismo (Kraus, 2014).

Que los insectos sean capaces de eliminar metales pesados de sus cuerpos es importante pues permite reducir la cantidad de mercurio que ingresa nuevamente a la cadena alimenticia cuando estos insectos son ingeridos por eslabones superiores de la cadena trófica. Ambos procesos, para el tipo de criadero diseñado, podrían ser difíciles de estudiar pues dependen de la recolecta de material fecal o de los residuos de la metamorfosis del insecto, los cuales pueden ser de difícil identificación y también de difícil análisis por el volumen tan pequeño de material excretado o eliminado por el mismo en comparación a la cantidad de sustrato sobre el cual se criaron los insectos.

Cuadro 5.11 Resumen de resultados para los criaderos control

<i>Muestra</i>	<i>Número de mediciones</i>	<i>Concentración Promedio $\mu\text{g Hg/kg}$</i>	<i>Desviación estándar</i>	<i>Ámbito de concentraciones $\mu\text{g Hg/kg}$</i>
<i>Moscas adultas</i>	7	39	54	9 – 170
<i>Larvas</i>	4	6,2	5,4	1,7 – 3,3
<i>Sustrato</i>	6	1,8	0,8	0,8 – 2,6

Al observar el resumen de resultados mostrados en el cuadro 5.11, se encontró con que los insectos adultos contaban con niveles de mercurio en un ámbito superior (de 14,1 $\mu\text{g Hg/kg}$ a 169,9 $\mu\text{g Hg/kg}$) a las larvas de los criaderos (de 1,7 $\mu\text{g Hg/kg}$ a 13,8 $\mu\text{g Hg/kg}$). Para identificar si la dieta de la población control contenía mercurio se analizó el sustrato de alimentación de las moscas y se encontró mercurio en cantidades desde 0,8 $\mu\text{g Hg/kg}$ hasta 2,6 $\mu\text{g Hg/kg}$. Es de esperar que la población adulta de moscas tenga un contenido de mercurio mayor, pues estas se estuvieron alimentando durante todo su ciclo de vida con el sustrato contaminado y por lo tanto acumularon mercurio en su organismo.

La dieta suministrada que consistía en desperdicios de alimentos varios: lácteos, frutas, cereales y carnes, los cuales pueden contener ya niveles altos de mercurio por la biomagnificación del mismo en la cadena trófica. Muchos organismos obtienen el mercurio directamente por alimentación, las larvas de mosca tienen niveles tan altos como otros insectos depredadores a pesar de estar en el fondo de la red alimentaria debido a que también consumen organismos en descomposición o sustancias de origen animal que vienen de estratos más altos de la cadena alimentaria y por lo tanto con mayor contenido de mercurio (Harding, 2006).

Zaman (1993) y su equipo realizaron estudios para evaluar la toxicidad del mercurio en *Musca doméstica* y *Trichoplusia ni*. En dichos estudios alimentaron a las moscas con una dieta que contenía 0,005% de Hg_2Cl_2 o HgCl_2 encontrando que las moscas acumulan un promedio de 54 mg Hg/kg para el Hg_2Cl_2 y 30,3 mg Hg/kg. Ellos también realizaron un control con alimento libre de mercurio en el cual se encontró un contenido de 0,47 mg Hg/kg en las moscas control.

Utilizando moscas de los 3 criaderos, se procedió a separar cada individuo en cabeza, tórax y abdomen. Se procedió a analizar las 3 partes por separado y únicamente se encontró mercurio en niveles cuantificables en la muestra correspondiente al abdomen de las moscas con un valor de 14,9 μg Hg/kg. Este resultado es coincidente con las investigaciones que indican que la acumulación de metales pesados se realiza en los intestinos de las moscas. La acumulación de metales pesados ocurre en diferentes partes del insecto dependiendo del tipo de metal, metales bivalentes como el Hg^{2+} se acumulan mayoritariamente en el abdomen y es posible que además ingresen a las células del epitelio intestinal durante la reconstrucción de tejidos que ocurre en la metamorfosis. Además, no existe evidencia significativa que indique que los metales pesados se acumulan en el cerebro o los músculos de las larvas cuando estas se exponen a dosis no letales de metales (Tylko, 2005).

Los resultados del análisis SEM siguiendo el protocolo del LIM, confirmaron la presencia de mercurio en moscas. Los análisis SEM/EDS suelen utilizarse para calcular el contenido de mercurio en materias inorgánicas como carbón y así estimar el flujo de mercurio que se aporta a la atmósfera en procesos como la combustión (Rompalski, 2019). También es una técnica que puede utilizarse para analizar contenidos de metales pesados en muestras

orgánicas, pues el barrido espectral permite la identificación de varios elementos en una única medición, sin destruir la muestra (Tomasevic, 2004).

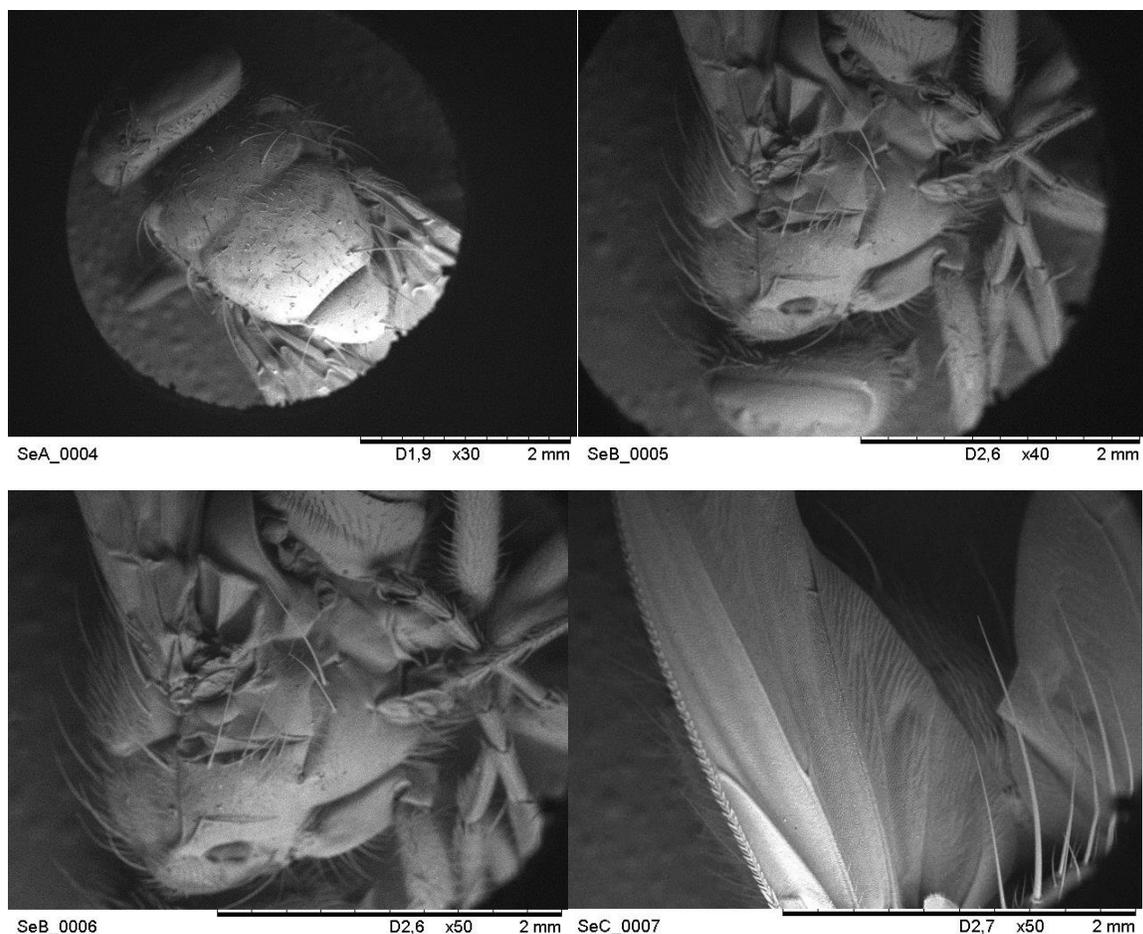


Figura 5.5. Imágenes de la mosca obtenidas mediante SEM.

En el análisis elemental de las muestras de mosca, mediante la técnica de análisis espectral por microscopía se encontró contenidos de mercurio relativos de 1,27 %, 0,72% y 1,41% en las muestras de moscas, esto a partir de una señal característica para el mercurio cerca de 2 keV, como se aprecia en la figura 5.6.

Este análisis presenta la ventaja de ser un método no destructivo pues permite la determinación de mercurio sin destruir la muestra como si sucedió con el analizador de mercurio. Además, nos permite confirmar la presencia de mercurio en las muestras por medio de una técnica adicional y de esta forma corroborar de forma cualitativa los resultados obtenidos mediante el analizador de mercurio.

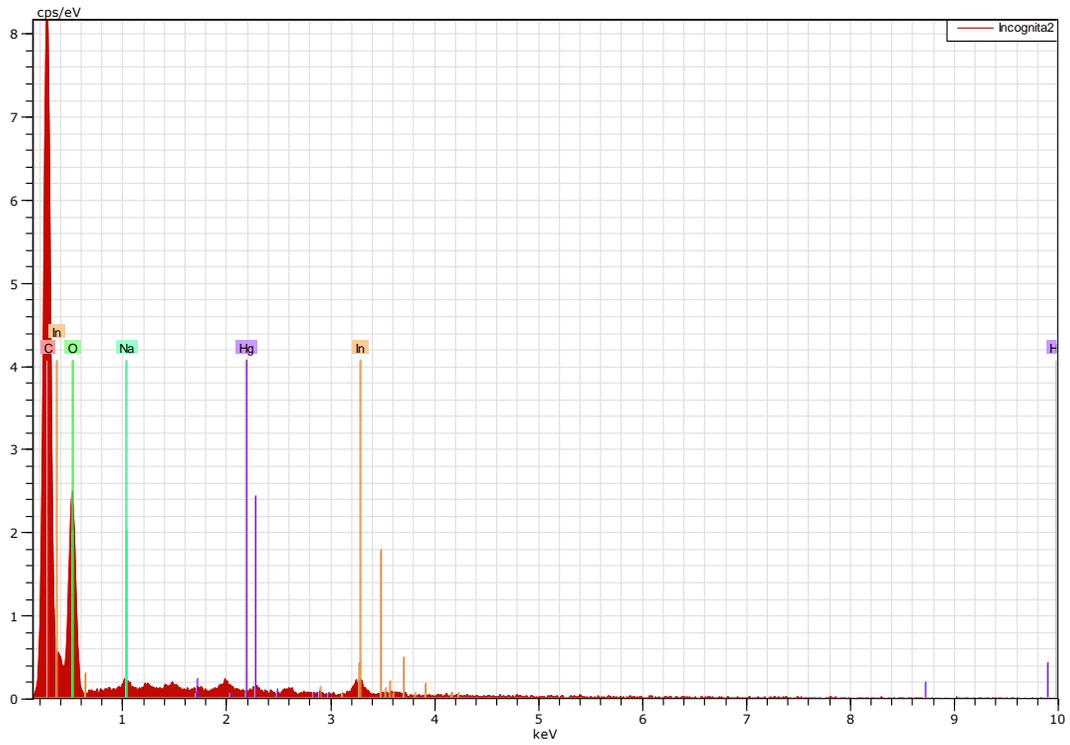


Figura 5.6. Análisis elemental realizado a muestras de moscas mediante SEM.

6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 CONCLUSIONES

Se recolectaron muestras de moscas en diferentes zonas del Área Metropolitana de San José, las cuales fueron procesadas con el uso de un analizador de mercurio para determinar su nivel de contaminación mediante la interpolación de concentraciones con curvas de calibración en diferentes niveles. Además, se utilizó un análisis elemental SEM para corroborar la existencia de mercurio en las muestras.

Se comprobó que la técnica de medición de mercurio mediante el uso de Analizador de Mercurio Nipon MA-3000 es una técnica eficiente que permite obtener concentraciones de mercurio del orden de los $\mu\text{g Hg/kg}$ hasta los g Hg/kg , trabajar con cantidades de muestra tan pequeñas como 20 mg y que provee de resultados satisfactorios sin la necesidad de un pretratamiento de la muestra. Esto permite ahorro de insumos y tiempo respecto a otras técnicas analíticas.

Se logró determinar haciendo uso de la metodología desarrollada para muestreo y análisis, la concentración de mercurio para las moscas recolectadas durante el primer muestreo con valores que oscilan entre un mínimo de 0,41 mg Hg/kg hasta 21,07 mg Hg/kg. Es probable que las concentraciones tan altas como 1877 mg Hg/kg en las muestras de Barrio Aranjuez en la zona central de San José se deban alguna contaminación puntual presente en el sitio de muestreo. Para el segundo bloque de muestras las concentraciones de mercurio alcanzaron valores máximos de 22,9 $\mu\text{g Hg/kg}$, valores mucho menores que para el primer muestreo y que podrían estar relacionados con la pérdida de mercurio debido a consecuencias producto de la pandemia del COVID-19. Si bien los resultados presentan una gran variabilidad incluso para muestras de una misma zona, la posibilidad de encontrar muestras positivas para el contenido de mercurio a diferentes niveles de concentración permite el uso de la *Musca sp* como un bioindicador de la contaminación por mercurio.

6.2 RECOMENDACIONES

En vista de la dificultad para tomar las muestras de moscas sería mejor contar con un dispositivo que pueda atrapar las moscas de forma pasiva. En el mercado existen algunos

aparatos que pueden realizar esto, sin embargo, sigue siendo dificultoso porque el cebo que generalmente se utiliza para atraer las moscas (e.g. carne, lácteos) también atrae alimañas indeseables como cucarachas, ratas y hasta mamíferos como gatos (uno de nuestros primeros criaderos fue destruido por un gato).

Realizar un control cruzado con muestras de aire y suelo en las zonas cercanas al punto de muestreo puede ser importante para verificar si los valores de mercurio obtenidos para las moscas se deben únicamente a su alimentación o si existe algún foco de contaminación extra que pueda influir en el contenido de mercurio de las moscas.

7 REFERENCIAS

- Anze, R., Franken, M., Zaballa, M., Pinto, M. R., Zeballos, G., Cuadros, M. A., Canseco, A., De la Rocha, A., Estellano, V. H., & Del Granado, S. (2007). Bioindicadores en la detección de la contaminación atmosférica en Bolivia. *Redesma*, 1(1), 5374.
- Ariza Torres, L. X., & Camargo Melo, T. A. (2019). Guía metodológica para el muestreo de suelos contaminados con mercurio por minería del oro en Colombia.
- Astolfi, M. L., Protano, C., Marconi, E., Piamonti, D., Massimi, L., Brunori, M., Vitali, M., & Canepari, S. (2019). Simple and rapid method for the determination of mercury in human hair by cold vapour generation atomic fluorescence spectrometry. *Microchemical Journal*, 150, 104186.
- Azam, I., Afsheen, S., Zia, A., Javed, M., Saeed, R., Sarwar, M. K., & Munir, B. (2015). Evaluating insects as bioindicators of heavy metal contamination and accumulation near industrial area of Gujrat, Pakistan. *BioMed Research International*, 2015
- Barkay, T., Miller, S. M., & Summers, A. O. (2003). Bacterial mercury resistance from atoms to ecosystems. *FEMS Microbiology Reviews*, 27(2-3), 355-384.
- Beeby, A. (2020). Toxic metal uptake and essential metal regulation in terrestrial invertebrates: a review. *Metal Ecotoxicology*, , 65-89.
- Boening, D. W. (2000). Ecological effects, transport, and fate of mercury: a general review. *Chemosphere*, 40(12), 1335-1351.
- Budnik, L. T., & Casteleyn, L. (2019). Mercury pollution in modern times and its socio-medical consequences. *Science of the Total Environment*, 654, 720-734.
- Cevallos Raza, M. G. (2017). Desarrollo e implementación de un método para la determinación de plomo por absorción atómica en horno de grafito en agua natural y potable. *Desarrollo E Implementación De Un Método Para La Determinación De Plomo Por Absorción Atómica En Horno De Grafito En Agua Natural Y Potable En El L3C-EPMAPS*,

- Chen, C. Y., & Driscoll, C. T. (2018). Integrating mercury research and policy in a changing world. *Ambio*, 47(2), 111-115.
- Cortés Castillo, C. E. Determinación de mercurio orgánico e inorgánico en muestras ambientales. *Departamento De Química*,
- da Conceição Luiz, L., Bell, M. J. V., Batista, R. T., de Freitas, R. P., da Rocha, R. A., Moreira, S. I., Moraes, M. N., & dos Anjos, Virgílio de Carvalho. (2021). Use of scanning electron microscopy with energy dispersive spectroscopy to detect metallic contamination in candies. *Food Packaging and Shelf Life*, 28, 100649.
- Duruibe, J. O., Ogwuegbu, M., & Ekwurugwu, J. N. (2007). Heavy metal pollution and human biotoxic effects. *International Journal of Physical Sciences*, 2(5), 112-118.
- DIGECA (2021) Análisis socioeconómico: Minería de oro artesanal y sustitución de productos. Consulta en: <http://www.digecca.go.cr/areas/mercurio-convenio-de-minamata>
- Eagles-Smith, C. A., Silbergeld, E. K., Basu, N., Bustamante, P., Diaz-Barriga, F., Hopkins, W. A., Kidd, K. A., & Nyland, J. F. (2018). Modulators of mercury risk to wildlife and humans in the context of rapid global change. *Ambio*, 47(2), 170-197.
- Fernández Villalobos, A. (2017). Desarrollo de un perfil nacional de uso de mercurio en Costa Rica a la luz de la entrada en vigencia del Convenio de Minamata.
- Gaona Martínez, J. (2004). *El mercurio como contaminante global Desarrollo de metodologías para su determinación en suelos contaminados y estrategias para la reducción de su liberación al medio ambiente*. Universitat Autònoma de Barcelona,.
- Han, F. X., Patterson, W. D., Xia, Y., Sridhar, B. M., & Su, Y. (2006). Rapid determination of mercury in plant and soil samples using inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy, a comparative study. *Water, Air, and Soil Pollution*, 170(1), 161-171.

- Hammerschmidt, C. R., & Fitzgerald, W. F. (2005). Methylmercury in mosquitoes related to atmospheric mercury deposition and contamination. *Environmental Science & Technology*, 39(9), 3034-3039.
- Harding, K. M., Gowland, J. A., & Dillon, P. J. (2006). Mercury concentration in black flies *Simulium* spp.(Diptera, Simuliidae) from soft-water streams in Ontario, Canada. *Environmental Pollution*, 143(3), 529-535.
- Heikens, A., Peijnenburg, W., & Hendriks, A. J. (2001). Bioaccumulation of heavy metals in terrestrial invertebrates. *Environmental Pollution*, 113(3), 385-393.
- Hintelmann, H., & Ogrinc, N. (2003). Determination of stable mercury isotopes by ICP/MS and their application in environmental studies. (). ACS Publications.
- Howard, D., Macsween, K., Edwards, G. C., Desservettaz, M., Guérette, E., Paton-Walsh, C., Surawski, N. C., Sullivan, A. L., Weston, C., & Volkova, L. (2019). Investigation of mercury emissions from burning of Australian eucalypt forest surface fuels using a combustion wind tunnel and field observations. *Atmospheric Environment*, 202, 17-27.
- Huang, J., Lyman, S. N., Hartman, J. S., & Gustin, M. S. (2014). A review of passive sampling systems for ambient air mercury measurements. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 16(3), 374-392.
- Huang, Y., Deng, M., Li, T., Japenga, J., Chen, Q., Yang, X., & He, Z. (2017). Anthropogenic mercury emissions from 1980 to 2012 in China. *Environmental Pollution*, 226, 230-239.
- Jagustyn, B., Kmiec, M., Smędowski, Ł., & Sajdak, M. (2017). The content and emission factors of heavy metals in biomass used for energy purposes in the context of the requirements of international standards. *Journal of the Energy Institute*, 90(5), 704-714.
- Khan, F. R., Bury, N. R., & Hogstrand, C. (2012). Copper and zinc detoxification in *Gammarus pulex* (L.). *Journal of Experimental Biology*, 215(5), 822-832.

- Kraus, J. M., Walters, D. M., Wesner, J. S., Stricker, C. A., Schmidt, T. S., & Zuellig, R. E. (2014). Metamorphosis alters contaminants and chemical tracers in insects: implications for food webs. *Environmental Science & Technology*, 48(18), 10957-10965.
- Lázaro, W. L., Díez, S., da Silva, C. J., Ignácio, Á R., & Guimarães, J. R. (2018). Seasonal changes in peryphytic microbial metabolism determining mercury methylation in a tropical wetland. *Science of the Total Environment*, 627, 1345-1352.
- Leopold, K., Foulkes, M., & Worsfold, P. (2010a). Methods for the determination and speciation of mercury in natural waters—a review. *Analytica Chimica Acta*, 663(2), 127-138.
- Leopold, K., Foulkes, M., & Worsfold, P. (2010b). Methods for the determination and speciation of mercury in natural waters—a review. *Analytica Chimica Acta*, 663(2), 127-138.
- Marcinek-Jacel, M., Albińska, J., Pawlaczyk, A., & Szykowska, M. I. (2017). The impact of demographic factors, behaviors and environmental exposure to mercury content in the hair of the population living in the region of Lodz (central Poland). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 55, 196-201.
- Murillo, L. C., Dominguez, J. R., Fernández, L., & Alvarado, J. (2013). Diseño y optimización de una celda para generar vapor frio de mercurio y su determinación por Espectroscopia de Absorción Atómica. *Avances En Química*, 8(3), 153-156.
- Nevado, J. B., Martin-Doimeadios, R. R., Krupp, E. M., Bernardo, F. G., Fariñas, N. R., Moreno, M. J., Wallace, D., & Roper, M. P. (2011). Comparison of gas chromatographic hyphenated techniques for mercury speciation analysis. *Journal of Chromatography A*, 1218(28), 4545-4551.
- Nummelin, M., Lodenius, M., Tulisalo, E., Hirvonen, H., & Alanko, T. (2007). Predatory insects as bioindicators of heavy metal pollution. *Environmental Pollution*, 145(1), 339-347.
- Nuorteva, P., & Nuorteva, S. (1982). The fate of mercury in sarcosaprophagous flies and in insects eating them. *Ambio*, , 34-37.

- Minamata Convention, (2013). <http://www.mercuryconvention.org/>
- Parsons, M. B., & Percival, J. B. (2005a). A brief history of mercury and its environmental impact. *Mercury: Sources, Measurements, Cycles, and Effects*, 34, 1-20.
- Parsons, M. B., & Percival, J. B. (2005b). A brief history of mercury and its environmental impact. *Mercury: Sources, Measurements, Cycles, and Effects*, 34, 1-20.
- Pavlish, J. H., Sondreal, E. A., Mann, M. D., Olson, E. S., Galbreath, K. C., Laudal, D. L., & Benson, S. A. (2003). Status review of mercury control options for coal-fired power plants. *Fuel Processing Technology*, 82(2-3), 89-165.
- Perugini, M., Manera, M., Grotta, L., Abete, M. C., Tarasco, R., & Amorena, M. (2011). Heavy metal (Hg, Cr, Cd, and Pb) contamination in urban areas and wildlife reserves: honeybees as bioindicators. *Biological Trace Element Research*, 140(2), 170-176.
- Pokharel, A. K., & Obrist, D. (2011). Fate of mercury in tree litter during decomposition. *Biogeosciences*, 8(9), 2507-2521.
- Prete, D., Davis, M., & Lu, J. (2018). Factors affecting the concentration and distribution of gaseous elemental mercury in the urban atmosphere of downtown Toronto. *Atmospheric Environment*, 192, 24-34.
- Rice, K. M., Walker Jr, E. M., Wu, M., Gillette, C., & Blough, E. R. (2014). Environmental mercury and its toxic effects. *Journal of Preventive Medicine and Public Health*, 47(2), 74.
- Rompalski, P., Smoliński, A., Krztoń, H., Gazdowicz, J., Howaniec, N., & Rog, L. (2019). Determination of mercury content in hard coal and fly ash using X-ray diffraction and scanning electron microscopy coupled with chemical analysis. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(8), 3927-3942.

- Rudd, J. W., Bodaly, R. A., Fisher, N. S., Kelly, C. A., Kopec, D., & Whipple, C. (2018). Fifty years after its discharge, methylation of legacy mercury trapped in the Penobscot Estuary sustains high mercury in biota. *Science of the Total Environment*, 642, 1340-1352.
- Sanchez-Arroyo, H., & Capinera, J. L. (2013). House fly, *Musca domestica* Linnaeus (Insecta: Diptera: Muscidae). *IFAS Extension, University of Florida*, 28, 124-230.
- Schlapbach, F. A. (2017). Control integrado de moscas. *Asociación Argentina Cabañeros De Porcinos*, 18, 1-18.
- Selin, N. E. (2009). Global biogeochemical cycling of mercury: a review. *Annual Review of Environment and Resources*, 34, 43-63.
- Sommaggio, D. (1999). Syrphidae: can they be used as environmental bioindicators? *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 74(1-3), 343-356.
- Stylo, M., Alvarez, J., Dittkrist, J., & Jiao, H. (2016). Global review of mercury monitoring networks. *UNEP, Geneva*,
- Tomašević, M., Rajšić, S., Đorđević, D., Tasić, M., Krstić, J., & Novaković, V. (2004). Heavy metals accumulation in tree leaves from urban areas. *Environmental Chemistry Letters*, 2(3), 151-154.
- Zhang, H., Zhao, Y., Wang, Z., & Liu, Y. (2021). Distribution characteristics, bioaccumulation and trophic transfer of heavy metals in the food web of grassland ecosystems. *Chemosphere*, 278, 130407.

APÉNDICES

Apéndice 1: Preparación de Curvas de calibración, método desarrollado por el IRET.

Curva		Hg 13		Mercurio (HgT) nivel bajo e intermedio											
25/08/20		MMG		actualización											
NOMBRE	Madre Ind. Conc.	Hg11 Ma	Hg11 Mb	Hg 11.3	Hg 08.bl	Hg 09.1	Hg 09.2	Hg 09.3	Hg 09.4	V total					
Fecha preparacion Iniciales	mmg	mmg	mmg	mmg	mmg	mmg	mmg	mmg	mmg	mmg					
Unidades	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L					
Patron	Hg	Hg11 Ma	Hg 11 Mb	Hg 11.3	Hg 11.3	Hg 11.3	Hg 11.3	Hg 11.3	Hg 11.3	Hg 11.3					
Volumen balon, ml	10	25	25	10	10	10	10	10	10	10					
incertidumbre, ml				0,04	0,03	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04					
Volumen alicuota, ml	1	2	0,4	0	0,1	0,2	0,5	1	1,8						
Pipeta utilizada															
Concentracion teorica	100,5	8,04	0,13	0,00	0,0013	0,0026	0,0064	0,0129							
Cantidad de Hg en 200 µL, ng		25,7	0,0	0,26	0,5	1,3	3								
Masa Balon, g	18,534	24,124	24,05730	18,10596	18,37288	18,16494	17,89813								
Masa Balon + alicuota, g	19,548	26,141	24,46902	18,20713	18,58168	18,6743	18,91164								
Masa alicuota, g	1,01	2,02	0,41	0,10	0,21	0,51	1,01								
Volumen alicuota, ml	1	2	0,41	0,10	0,21	0,51	1,01								
Masa balon con disolucion, g	28,505	49,109	48,98602	28,0461	28,3521	28,1386	27,8183								
Volumen disolucion (ml)	10,0	25,0	24,9	0,0	9,9	10,0	9,9								
Disolvente			L-Cistena 100	L-Cistena 100	L-Cistena 100	L-Cistena 100	L-Cistena 100	L-Cistena 100	L-Cistena 100						
Densidad (g/ml) *	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00						
Concentracion µg/ml (= mg/L)	100,80	8,07	0,13	0,0014	0,0028	0,0068	0,0135								
Concentracion ng/ml	133,3	1,4	2,8	6,8	13,5										
Cantidad de Hg en 200 µL (ng)	26,65	0,000	0,27	0,56	1,36	2,70									

Pipeta automática de 100-1000 µL
 1 ppm = 1 mg/L = 1 µg/mL
 1 ppb = 1 ng/mL
 Bitacorra registro de laboratorio P62
 control revision 1/9/2020 Cru
 * Se tomó como densidad 1,00 g/mL

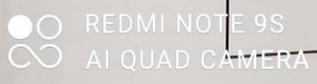
Curva

Hg 11 Mercurio (Hg1) nivel Intermedio
 02/03/21 MMG
 Cru

NOMBRE	Madre Ind. Conc.	Hg11 Ma	Hg11 Mb	Hg 11.1	Hg 11.2	Hg 11.3	Hg 11.4	Hg 11.5	Hg 11.6	Hg 11.7	Hg 11.8	V total
Fecha preparacion Iniciales Unidades		MMG mg/L	MMG mg/L	MMG	MMG							
Patron	Hg	Hg11 Ma	Hg 11 Mb	Hg 11 Mb	Hg 11 Mb	Hg 11 Mb	Hg 11 Mb	Hg 11 Mb	Hg 11 Mb	Hg 11 Mb	Hg 11 Mb	ml
Volumen balon, ml	10	25	10	25	25	25	25	25	25	25	20	20
Incidumbre, ml			0.03	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
Volumen alícuota, ml	1	2	0	0.1	0.2	0.4	0.8	1.5	4	6	10	23
Pipeta utilizada												
Concentración teorica	1005	100.5	8.04	0.00	0.03	0.06	0.13	0.26	0.48	1.29	2.41	4.02
Cantidad de Hg en 200 µL, ng			0.0	6.4	12.9	25.7	51.5	96.5	257.3	482	804	
Masa Balon, g	18.534	24.124		23.73618	23.76219	24.05730	24.00071	22.44565	23.87939	23.42913	22.31710	
Masa Balon + alícuota, g	19.548	26.141		23.83487	23.87909	24.46902	24.82255	23.97983	27.89068	29.43259	32.33033	
Masa alícuota, g	1.01	2.02		0.00	0.10	0.12	0.41	1.53	4.01	6.00	10.01	
Volumen alícuota, ml	1	2		0.00	0.10	0.12	0.41	0.82	1.53	4.01	6.00	10.01
Masa balon con disolución, g	28.505	49.109		48.73066	48.60248	48.98602	48.97041	47.43514	48.83883	43.37354	42.31315	
Volumen disolución (ml)	10.0	25.0		0.0	25.0	24.8	24.9	25.0	25.0	25.0	20.0	
Disolvente				L-Cistena 100 mg/L								
Densidad (g/ml) *	1.00	1.00		1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	
Concentración µg/ml (= mg/l)	1005	100.80	8.07	0.032	0.04	0.13	0.27	0.50	1.30	2.43	4.04	
Concentración ng/ml				31.9	38.0	133.3	265.6	495.4	1296.7	2428.7	4040.5	
Cantidad de Hg en 200 µL (ng)				0.000	6.37	7.59	26.65	53.11	99.07	259.3	485.7	808.1

Pipeta automática de 100-1000 µL
 1 ppm = 1 mg/L = 1 µg/ml
 1 ppb = 1 ng/ml

Balanza registro de laboratorio P62
 Cru * se tomó como densidad 1.00 g/ml



25/08/20 MMG

actualización

NOMBRE	Madre ind. Conc.	Hg08 Ma	Hg08 Mb	Hg 08.3	Hg 08.4	Hg 08.5	V total
Fecha preparacion Iniciales Unidades	31/07/20 MMG mg/L	31/07/20 MMG mg/L	07/08/20 MMG	07/08/20 MMG	24/08/20 MMG	25/08/20 MMG	25/08/20 MMG
Patron	Hg	Hg08 Ma	Hg 08 Mb	Hg 08.3	Hg 08.3	Hg 08.3	Hg 08.3
Volumen balon, ml	10	25	25	10	25	25	25
Incertidumbre, ml				0,04	0,04	0,04	0,04
Volumen alicuota, ml	1	2	0,4	0	0,2	0,5	2
Pipeta utilizada							
Concentración teorica	100,5	8,04	0,13	0,00	0,0010	0,0026	0,0103
Cantidad de Hg en 200 µL, ng			25,7	0,0	0,21	0,5	2
Masa Balon, g	12,0328	23,8011	22,32206	28,30047	28,43456	28,92379	28,29324
Masa Balon + alicuota, g	13,0403	25,8189	22,73288	28,49835	28,9433	29,9367	30,30058
Masa alicuota, g	1,01	2,02	0,41	0,00	0,20	0,51	2,01
Volumen alicuota, ml	1	2	0,41	0,00	0,20	0,51	2,01
Masa balon con disolucion, g	21,989	48,7348	47,2725	53,2867	53,3912	53,9033	53,2020
Volumen disolucion (ml)	10,0	24,9	25,0	0,0	25,0	25,0	24,9
Disolvente			L-Cisteina 100 mg/L				
Densidad (g/ml) *	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Concentración µg/ml (= mg/L)	1005	100,94	8,10	0,13	0,0011	0,0027	0,0054
Concentración ng/ml				133,3	1,1	2,7	5,4
Cantidad de Hg en 200 µL (ng)				26,56	0,000	0,21	0,54
							1,1
							2,1
							3,2

1 ppm = 1 mg/L = 1 µg/ml
1 ppb = 1 ng/ml

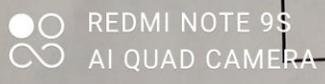
Pipeta automática de 100-1000 uL

Bitacora registro de laboratorio P62

control revision

Cru

* se tomó como densidad 1.00 g/ml



ANEXOS

