

UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERIA
Facultad de Ciencias
Sección de Post-Grado y 2da. Especialización Profesional



**Tesis para Optar el Grado de Maestría
en Ciencias, Mención en Energía Nuclear**

Análisis de Mercurio en Muestras del Medio Ambiente

Presentado por
FRIEDA SILVIA SCHÖSTER ARCE

Lima-Perú
1992

INDICE

1. Parte Teórica	
1.1. Introducción	
1.2. Mercurio	
1.2.1. Estado natural	3
1.2.2. Propiedades físicas y químicas	4
1.2.3. Usos	6
1.2.4. Toxicidad	10
1.2.5. Síntomas	12
1.3. Análisis de mercurio (toxicología analítica)	14
1.3.1. Identificación y determinación en la atmósfera	14
1.3.2. Determinación en medios biológicos	15
1.3.3. Distribución en el organismo	17
1.3.4. Eliminación	18
1.4. Análisis por activación neutrónica	19
1.4.1. Teoría	21
1.4.2. Métodos de análisis por activación	22
1.4.2.1. Método absoluto	22
1.4.2.2. Método del comparador o standard	23
1.4.2.3. Método del patrón interno	24
1.4.2.4. Métodos destructivos y no destructivos	25
1.4.2.5. Análisis por activación empleando elementos de período corto	26
1.4.2.5.1. Empleo de pulsos de neutrones	28
1.4.2.5.2. Tubos neumáticos	29
1.4.2.6. Métodos especiales de análisis - análisis por activación empleando los rayos gama inmediato	30
1.4.3. Instrumentación	31

2.2.4. Preparación de ampollas de cuarzo conteniendo el patrón de Hg	59
2.2.5. Comprobación de la concentración de la solución de 1000 ppm de mercurio	59
2.2.6. Preparación de muestras	60
2.2.7. Preparación de patrón de selenio	61
2.2.8. Preparación de ampollas de cuarzo conteniendo el patrón de Se	61
2.3. Propiedades físicas del patrón de mercurio y de las muestras	62
2.4. Lavado de material utilizado durante el trabajo antes de la irradiación	63
2.5. Determinación de ausencia de interferencias en ampollas de cuarzo en el fotopico en 279 KeV de ^{203}Hg	63
2.6. Preparación de las ampollas de cuarzo conteniendo el patrón de mercurio y las muestras para su irradiación en "canes" (cápsulas) de aluminio	64
2.7. Recepción de "canes" de aluminio y tratamiento de ampollas de cuarzo ultrapuro previo a su contaje	64
2.8. Contaje de ampollas de cuarzo ultrapuro conteniendo el patrón de mercurio y las muestras	65
2.8.1. Parámetros de contaje de ampollas de cuarzo ultrapuro conteniendo el patrón de mercurio y las muestras	65
2.8.2. Evaluación de fotopicos	67
2.8.3. Suavizado de fotopicos	68
2.9. Tratamiento de datos	68
- Tiempo de decaimiento	68
2.9.1. Cálculo de actividades de patrones y muestras y concentraciones de muestras en ppm	68

2.9.1.1. Corrección del área por contribución de selenio	69
2.9.1.2. Cálculo de la actividad medida	70
2.9.1.3. Cálculo de actividad corregida por tiempo de decaimiento y tiempo de contaje	70
2.9.1.4. Cálculo de concentraciones en ppm	71
2.9.1.5. Cálculo de concentraciones promedio en ppm	71
2.9.2. Cálculo de desviaciones estándar	72
2.9.2.1. Desviación estándar en cada "can" de aluminio	72
2.9.2.2. Desviación estándar en el área neta	73
2.9.2.3. Desviación estándar en área corregida por contribución de selenio	74
2.9.2.4. Desviación estándar en actividad total corregida por tiempo de decaimiento y tiempo de contaje	74
2.9.2.5. Desviación estándar en cálculo de concentraciones	74
2.9.2.6. Desviación estándar en cálculo de concentraciones promedio	75
2.9.2.7. Desviación estándar promedio de resultados	75
2.9.3. Descarte de datos - test-Q	75
2.9.4. Límite de detección	76
2.10. Resultados obtenidos	77
3. Discusión de Resultados	78
3.1. Los radioisótopos usados para la determinación del mercurio en muestras medio ambientales	78
3.2. Determinación de ausencia de interferencias en ampollas de cuarzo en el fotopico en 279 KeV de ²⁰³ Hg	87
3.3. Algunos problemas en análisis por activación de mercurio	87
3.3.1. Pérdidas por almacenamiento	87
3.3.2. Pérdidas durante la irradiación	89

3.3.3. Pérdidas en el " secado por congelamiento " (liofilización)	90
3.3.4. Otras pérdidas	92
3.3.5. Preparación en estándares de mercurio para irradiación	92
3.3.6. Preparación de muestras para irradiación	93
3.4. Instrumentación utilizada	94
3.5. Limitaciones de la espectrometría gama	95
3.6. Muestras para la espectrometría gama	97
3.7. Cálculo del área del fotopico	98
3.8. Suavizado de fotopicos	101
3.9. Desviación estándar	102
3.10. Medición de porcentaje de humedad	105
3.11. Descarte de datos - test-Q	105
3.12. Límite de detección	107
3.13. Resultados obtenidos en comparación con los teóricos	108
3.14. Mejoras del método	110
3.15. Ventajas y desventajas de los diferentes métodos	110
4. Conclusiones y Recomendaciones	114
4.1. Conclusiones	114
4.1.1. Pérdidas por almacenamiento	115
4.1.2. Pérdidas durante la irradiación	115
4.1.3. Pérdidas en el " secado por congelamiento "	115
4.1.4. Preparación de estándares de mercurio para irradiación	115
4.1.5. Preparación de muestras para irradiación	116
4.2. Recomendaciones	116
5. Anexos	118
5.1. Anexo 1 : Tabla correspondiente a secuencia de fechas de irradiaciones, contajes distancia de contaje y hora de	

inicio de contaje de cada "can" de aluminio, con su correspondiente distribución de muestras en cada "can" de aluminio.	119
5.2. Anexo 2: Datos tomados en el analizador multicanal series 85 de los patrones para tiempos de contaje de 3600 segundos.	120
5.3. Anexo 3: Datos tomados en el analizador multicanal series 85 de las muestras para variados tiempos de contaje en segundos.	121
5.4. Anexo 4: Datos tomados en el analizador multicanal series 85 de los patrones de Se para tiempos de contaje de 3600 segundos y la misma distancia al detector para el contaje (espesor de la mica (0,6 cm) + el radio de las ampollas de cuarzo ultrapuro (0,3 cm)).	123
5.5. Anexo 5: Tabla de tiempos de contaje (en seg.), tiempos de decaimiento antes del contaje (en seg.), pesos húmedos y pesos secos de las muestras.	124
5.6. Anexo 6: Tabla de cuentas reales debidas al ^{203}Hg en las muestras, actividad al momento de contaje en cps (A_0), actividad corregida por tiempo de decaimiento y por tiempo de contaje (A_m) y concentración de Hg en las muestras en ppm.	125
5.7. Anexo 7: Tabla de número de canales del fotopico (N), número de canales del fotopico menos dos (N-2), cuentas totales (suma de cuentas en canales inicial y final, $B_1 + B_N$), cálculo de fondo para límite de detección (B), límite de detección en cuentas (L_D), límite de detección en cps ($L_{D(A_0)}$), límite de detección en cps corregido por tiempo de decaimiento y tiempo de contaje ($L_{D(A_m)}$), límite de detección	

en concentración de mercurio en las muestras en ppm ($L_{D(X_{ppm})}$).	126
5.8. Anexo 8 : Tabla de actividad al momento de contaje en cps (A_0), actividad corregida por tiempo de decaimiento y por tiempo de contaje (A_m), para un peso de los patrones de mer curio de 0,93277 μ g.	128
6. Bibliografía	129

INDICE DE FIGURAS

1. Espectro de la muestra de riñón de caballo tomados en las mismas condiciones de tiempo (7000 seg), distancia al detector (1,5 cm + distancia de la mica (0,6 cm) + distancia del radio de la ampolla (0,3 cm)) a:
 - a) los diez días de decaimiento
 - b) los doce días de decaimiento 80
 - c) los dieciocho días de decaimiento
 - d) los cuarenta y cinco días de decaimiento 81
2. Ampliación del espectro en la zona de interés (donde esta el fotopico de ^{203}Hg (en 279 KeV) y el de ^{75}Se (en 264 KeV)) de la muestra de riñón de caballo, mostrando como se ven los fotopico al momento de contaje, tomados en las mismas condiciones de tiempo (7000 seg), distancia al detector (1,5 cm + distancia de la mica (0,6 cm)+ distancia del radio de la ampolla (0,3 cm)) a:
 - a) los diez días de decaimiento
 - b) los doce días de decaimiento 82
 - c) los dieciocho días de decaimiento
 - d) los cuarenta y cinco días de decaimiento 83
3. Ampliación del espectro en la zona de interés (donde esta el fotopico de ^{203}Hg (en 279 KeV) y el de ^{75}Se (en 264 KeV)) de la muestra de riñón de caballo, mostrando los fotopico interferentes completamente, tomados en las mismas condiciones de tiempo (7000 seg), distancia al detector (1,5 cm + distancia de la mica (0,6 cm) + distancia del radio de la ampolla (0,3 cm)) a:
 - a) los diez días de decaimiento
 - b) los doce días de decaimiento 84
 - c) los dieciocho días de decaimiento
 - d) los cuarenta y cinco días de decaimiento 85

INDICE DE TABLAS

1. Distribución del mercurio en los órganos	18
2. Determinación del mercurio en muestras ambientales por AAN	33
3. Determinación no destructiva de mercurio en muestras del medio ambiente	37
4. Bajo límite de determinación en AAN no destructivo	40
5. Descomposición de materiales biológicos para determinaciones de mercurio	42
6. Separación radioquímica de mercurio por técnicas de destilación (volatilización)	44
7. Separación radioquímica de mercurio con intercambio iónico	47
8. Separación radioquímica de mercurio por precipitación	48
9. Separación radioquímica de mercurio por extracción o intercambio isotópico	50
10. Bajo límite de determinación de mercurio (L_{Hg}) en AAN destructivo	53
11. Precisión de determinación de mercurio en materiales biológicos	55
12. Valores críticos de Q (P = 0,05)	76
13. Límite de detección de las muestras	77
14. Resultados obtenidos de contenido de Hg en las muestras (en ppm)	77
15. Radioisótopos usados para la determinación de mercurio en muestras ambientales	78
16. Contenido de Hg (en ppm) teórico y experimental en las muestras, límite de detección calculado (en ppm) para las muestras y contenido de Se (en ppm) teórico	108

ABREVIATURAS

EDTA	ácido etilendiaminotetracético
ppm	partes por millón
ppb	partes por billón
mmoles	milimoles
mL	mililitros
mg	miligramos
g	gramos
L	litros
μ L	microlitros
ng	nanogramos
μ g	microgramos
p.f.	punto de fusión
p.e.	punto de ebullición
eV	electrón voltios
KeV	kiloelectrón voltios
MeV	megaelectrón voltios
AAN	análisis por activación neutrónica
seg	segundos
A_0	actividad medida
A	actividad calculada corregida por tiempo de decaimiento y tiempo de contaje
	actividad calculada corregida por tiempo de decaimiento y tiempo de contaje de la muestra
A_p	actividad calculada corregida por tiempo de decaimiento y tiempo de contaje del patrón
t_c	tiempo de contaje
t_d	tiempo de decaimiento
cps	cuentas por segundo

RESUMEN

El mercurio se encuentra en la naturaleza en estado dispersado y su nivel natural en el ambiente se ha elevado considerablemente debido a las actividades del hombre, diciéndose así que es el metal de los mil usos. Estos usos son muy diversos, para citar ejemplos: como fungicidas en la agricultura y amalgamas en la odontología (medicina).

El mercurio se encuentra en forma inorgánica y mercurio-orgánico. En organismos vivos el mercurio es metabolizado en metil-mercurio.

El efecto tóxico del mercurio y sus compuestos es bien conocido y desde tiempos muy antiguos, de allí la importancia de su estudio como contaminante en el medio ambiente, pues se ha reconocido que representa un problema significativo para la salud aún a muy bajos niveles, tanto para el hombre como para el animal.

Debido a la gran importancia de su estudio es que se deben aplicar métodos confiables para su determinación, pues su nivel de concentración está por debajo de los ppm en muestras medio ambientales. Es allí donde el análisis por activación ha jugado un importante papel en los estudios de la polución de mercurio en el medio ambiente.

Este trabajo aspira a contribuir a la implementación de un método para análisis instrumental de mercurio en muestras ambientales por activación neutrónica y de esta manera desarrollar este campo en el país, pues es de gran importancia para el medio ambiente ya polucionado.

Con este estudio se establece la forma adecuada de preparar una solución patrón de mercurio y a partir de ella cómo preparar las ampollas de cuarzo ultrapuro conteniendo dicho patrón de mercurio. Además, se establece la manera adecuada de lavar el material que se emplea, así como de lavar, llenar y sellar las ampollas de cuarzo ultrapuro conteniendo los patrones y las muestras.

Las muestras que se analizan en el trabajo son materiales de referencia, para poder tener de esta manera la certeza sobre los resultados que se obtienen y poder tener así una base sólida y confiable para observar si el método es confiable o no.

Se establece el flujo neutrónico adecuado para la irradiación, así como el tiempo de dicha irradiación. Asimismo se establece el tiempo de decaimiento y de contaje de los patrones y muestras. Se establece también el equipo y forma adecuadas para realizar las mediciones. Se ven todas las posibles interferencias y problemas que se pueden presentar y se fijan las pautas para superarlos.

Una vez que se hacen las mediciones se establece la manera adecuada de realizar el tratamiento de datos y con éste las respectivas desviaciones estándar de dichos datos; hasta obtener los resultados.

En base a los resultados se puede llegar a las conclusiones y recomendaciones del trabajo y se realiza luego un análisis de sus ventajas y desventajas con respecto al análisis destructivo de las muestras.

1. PARTE TEORICA

1.1. Introducción (30, 50, 52)

El mercurio se encuentra en la naturaleza en estado dispersado y su nivel natural en el ambiente se ha elevado considerablemente debido a las actividades del hombre. El consumo creciente de la energía (combustión de carbón y productos del petróleo), el uso común de los organo-mercuriales como fungicidas en la agricultura, uso del mercurio en odontología, medicina, y laboratorios ha dado como resultado descargas de cientos de miles de toneladas de mercurio en el ambiente. El mercurio se encuentra en forma inorgánica y mercurio-orgánico. En organismos vivos el mercurio es metabolizado en metil-mercurio.

El efecto tóxico del mercurio y sus compuestos inorgánicos han sido conocidos desde tiempos muy antiguos, pero solamente recientemente ha sido reconocida la severa toxicidad del metil-mercurio.

Los efectos de la contaminación del mercurio en el ambiente se demostraron en los últimos años de los cincuenta y en los primeros de los sesentas en accidentes en Minamata (17, 30) y Niigata en Japón, cuando varios cientos de personas se intoxicaron (varias decenas murieron) como resultado de una descarga de organomercuriales al río y a las aguas costeras (50).

Adicionales accidentes tuvieron lugar en los últimos años de los sesenta en los países en desarrollo (Guatemala, Ghana, Irak, Pakistan) como resultado de ingestión accidental de semillas cubiertas por agromercuriales (17).

En años recientes se ha incrementado el interés en la determinación de mercurio en comida, medio ambiente y materiales biológicos (20, 46). Se ha reconocido como un problema significativo para la salud (20, 43). No obstante que se encuentra a muy bajos niveles, se sabe que el mercurio ha

sido y es el causante de efectos peligrosos en la salud^(18, 20). Es por este motivo que el mercurio aparece en la U.S. Environmental Protection Agency's Priority List of Toxic Substances^(18, 20).

Ha sido probado que el mercurio puede ser peligroso para el mundo del hombre y el animal, y es necesario controlar su nivel en el medio ambiente.

De modo de establecer una línea base y controlar eficientemente la contaminación en el medio ambiente, deben ser aplicados métodos confiables para determinar el mercurio. La concentración de mercurio en el medio ambiente está usualmente contenida en el nivel ppb* o en el del sub-ppb. Mientras que muchos métodos están disponibles para la determinación del mercurio al nivel del ppm no es el caso del nivel del ppb. (*ppb = partes por 10⁹)

Los métodos para determinar cantidades de vestigios de mercurio han sido revisados en varias partes. Estas publicaciones discuten también brevemente el método de activación.

El análisis por activación ha jugado un importante rol en los estudios de la polución de mercurio en el medio ambiente como está manifestado por gran número de trabajos publicados.

La aplicación de análisis por activación para determinar el mercurio en el medio ambiente ha sido discutida en varios documentos. Si bien estos documentos conllevan un carácter de revisión ellos conciernen un número limitado de trabajos originales o dedicados a problemas especiales.

Es la finalidad del presente trabajo el de implementar un método para análisis instrumental de mercurio en muestras ambientales por activación neutrónica.

1.2. Mercurio (4, 23, 29, 30)

El mercurio, símbolo Hg (del latín hydrargyrum), número atómico 80, peso atómico 200,61, está en el período VI y grupo IIB del sistema periódico. Se han identificado no menos de siete isótopos estables en el metal normal, con los siguientes números de masa y porcentajes: 196 - 0,15%; 198 - 10,1%; 199 - 17,0%; 200 - 20,3%; 201 - 13,2%; 202 - 29,6%; 204 - 6,7%. Aunque hay varios elementos raros con una constitución isotópica igualmente compleja, entre los metales comunes sólo el mercurio, el cadmio y el estaño tienen tan alto grado de complejidad; en el estaño hay 10 isótopos. Además de los siete isótopos normales del mercurio, se han producido varios isótopos radiactivos artificiales, con números de masa que oscilan entre 195 y 205 y tiempos de semidesintegración que varían entre una fracción de segundo y 51,5 días. El átomo de mercurio muestra estados de oxidación 1 y 2 en sus compuestos.

1.2.1. Estado Natural (4, 23, 29)

Hay pocos minerales de mercurio en las tablas mineralógicas, y pocos de ellos tienen importancia comercial. Casi toda la producción mundial de mercurio procede del cinabrio, HgS . A veces se encuentran pequeñas cantidades de mercurio nativo asociadas con el cinabrio, y existe el llamado metacinabrio, sulfuro en el cual una parte del mercurio ha sido reemplazado por el hierro o el cinc; pero esos minerales han contribuido a la producción comercial solamente en la medida en que se encuentran asociados con el cinabrio; no se conocen yacimientos de ninguno de ellos. Se han encontrado también amalgamas nativas de oro y plata. Hubo una época en que la amalgamación con el mercurio era el procedimiento más importante para extraer el oro y la plata de sus minerales. Otro mineral de mercurio es la livingstonita, $\text{HgS} \cdot \text{Sb}_2\text{S}_3$, que se ha encontrado en México en

cantidad suficiente para justificar el tratamiento de extracción de ambos metales, pero sólo en época de precios altos.

El cinabrio suele ser de color escarlata o bermellón; pero a veces tiene un color pardo rojizo hasta casi negro. Tiene una densidad de 8,0 - 8,2, dureza de 2 - 2,5 y cristaliza en el sistema hexagonal. Se descompone fácilmente por el calor; el mercurio se desprende en forma de vapor a medida que se oxida el azufre. Esta reacción es la base de la extracción comercial y es una de las operaciones más sencillas de beneficio de minerales.

El cinabrio se encuentra en cantidades comerciales en diferentes países; pero España, Italia y los Estados Unidos han producido más de 80% de la cantidad total de cinabrio producido en todo el mundo desde 1900. La riqueza del mineral varía muchísimo de una mina a otra, y disminuye con la profundidad, de modo que cuanto más tiempo se ha explotado una mina, tanto más pobre va siendo el mineral. Aunque hace un siglo se conocía cinabrio con 50% de mercurio, la calidad ha empeorado gradualmente hasta ser de 7 - 8% para el mineral de buena calidad y menos de 1% para el mineral pobre; en época de precios elevados, se han trabajado minerales con un contenido de mercurio no mayor de 500 gramos por tonelada. La producción media en los Estados Unidos fue de 2,550 Kg por tonelada en 1941 y 1942 y de 6,250 Kg en 1947.

1.2.2. Propiedades Físicas y Químicas (4, 15, 23, 29)

Propiedades Físicas: El mercurio es el único metal líquido a las temperaturas ordinarias; se solidifica a $-38,87^{\circ}\text{C}$ y hierve a $356,9^{\circ}\text{C}$. Tiene color blanco de plata con un ligero matiz azulado. Su densidad a 0°C es 13,596, y en el estado sólido a $-38,8^{\circ}\text{C}$ es 14,193. Cuando se solidifica, el metal se contrae, cristaliza en el sistema romboédrico y es muy dúctil. El sólido romboédrico sólo tiene un átomo por célula unitaria, y en el sistema Schönflies es clasificado en el grupo espacial D_{3d}^5 , con una constante de

red de 2,997 y un ángulo axial de $70^{\circ}32'$. Su tensión de vapor es muy débil a las temperaturas ordinarias (0,03 mm a 16°C , 0,23 mm a 40°C); no obstante, se puede comprobar sin dificultad que el mercurio emite vapores perceptibles incluso en frío; basta con suspender a poca distancia por encima de un baño de mercurio una hoja de oro que, poco a poco, blanquea por formación de una amalgama a 20°C .

El aire que se halla por encima de un recipiente de un metro cúbico de capacidad y de $0,5\text{ m}^2$ de superficie, con una temperatura de 20°C , contiene:

A 5 cm. por encima de la cuba de mercurio: 1,86 mg de mercurio por m^3 .

A 30 cm. por encima de la cuba de mercurio: 1,26 mg de mercurio por m^3 .

A 1 m. por encima de la cuba de mercurio: 0,85 mg de mercurio por m^3 .

La saturación, la concentración de mercurio por m^3 a esta temperatura es de aproximadamente 20mg. Esta volatilidad del mercurio es evidentemente muy importante en toxicología. Desde el plano biológico condiciona su penetración por vía pulmonar. Además, desde el aspecto analítico, los vapores son condensables por enfriamiento intenso a la temperatura del aire líquido, lo que constituye un método de captación del mercurio con vistas a su determinación en la atmósfera.

Los vapores de mercurio presentan una absorción extremadamente intensa al ultravioleta, con máximo a 2536 \AA . Berton propuso sobre esta base un método de detección extremadamente sensible (hasta $5\text{ }\mu\text{g}/\text{m}^3$).

El vapor de mercurio, bajo la influencia de una descarga eléctrica, produce un espectro de emisión característico que contiene principalmente rayos visibles intensos a 5461 \AA y 4358 \AA y rayos en el ultravioleta de los que los de $\lambda = 3650\text{ \AA}$ se emplean para la detección de fluorescencia.

La presión de vapor del mercurio, como algunos de sus otros caracteres físicos, se comporta con alguna irregularidad. Para valores exactos

debe usarse una tabla normal, pero para los cálculos industriales ordinarios servirán las fórmulas siguientes:

Desde 0°C a 150°C, $\log p = (-3212,5/T) + 8,025$; desde 150° a 400°C, $\log p = (-3141,33/T) + 7,879 - 0,00019t$; en la cual p es la presión de vapor en milímetros, T es la temperatura absoluta y t es la temperatura en grados centígrados. Esas fórmulas dan resultados con una aproximación de 1%, y muchos de ellos con una aproximación de 0,5%.

El mercurio tiene un calor latente de fusión de 2,82 cal./g y un calor latente de vaporización de 65 cal./g. En virtud de su uso en los termómetros, la dilatación cúbica es un carácter físico importante. En todo el intervalo líquido, la dilatación cúbica es expresada por la ecuación:

$$V_t = V_0 (1 + 0,18182 \times 10^{-3}t + 0,0078 \times 10^{-6}t^2)$$

El calor específico varía mucho con la temperatura; en el estado sólido aumenta desde 0,0319 cal./g a -75,6°C hasta 0,0337 a -40°C; pero en el estado líquido la variación con la temperatura se invierte, bajando desde 0,0339 a -36,7°C, aunque no de modo uniforme. El calor específico a 210°C es el mismo que a -75,6°C. Hasta 50°C, el calor específico lo da con bastante exactitud la fórmula $0,0339 - 0,0001038 (t + 36,7)$; para temperaturas comprendidas entre 50° y 150°C debe modificarse la fórmula por un término correctivo: $-0,000006(t - 50)$, y entre 150° y 250°C es necesario otra corrección más: $-0,000003(t - 150)$. Esas fórmulas se usan cuando no se dispone de una tabla de calores específicos; pero debe observarse que los valores derivados por encima de 150°C no son tan exactos como los correspondientes a temperaturas más bajas. Si bien los calores específicos para el mercurio sólido tienen poca importancia práctica, es interesante observar que el valor disminuye con bastante irregularidad con la temperatura y llega a 0,00552 en -263,3°C.

Otra propiedad física del mercurio que tiene interés práctico al mismo

tiempo que científico, es la tensión superficial. En virtud de su valor relativamente elevado (480,3 dinas/cm, la del agua es 75,6), el mercurio no moja el vidrio y forma un menisco invertido en un tubo capilar, caracteres que deben tenerse en cuenta cuando se usa el mercurio en barómetros y manómetros.

Propiedades Químicas: El mercurio puro es muy inerte; a las temperaturas ordinarias no es afectado por el aire, el oxígeno, el dióxido de carbono, el óxido nitroso y el amoníaco. En el aire húmedo, el mercurio se oxida lentamente, revistiéndose con una película de óxido mercurioso; sin embargo, en la mayoría de los casos de formación de película de óxido sobre el mercurio es el resultado de la oxidación de vestigios de otros metales disueltos en el mercurio como impurezas y no del mercurio mismo. Cuando se calienta por largo tiempo en contacto con aire u oxígeno, se forma óxido mercúrico rojo, que se descompone en mercurio y oxígeno si se eleva la temperatura por encima de 500°C. El azufre y los halógenos se combinan fácilmente con el metal, pero éste es moderadamente inactivo con los ácidos minerales. El ácido sulfúrico ataca al mercurio solamente cuando está concentrado y el ácido clorhídrico tiene poca acción sobre él. El mercurio se disuelve en ácido nítrico diluido y en el concentrado; el concentrado lo disuelve fácilmente con producción de vapores nitrosos. Cuando es atacado por un ácido, suele formarse la sal mercuriosa si el mercurio está en exceso o si no se utiliza calor, y se forma la sal mercúrica si hay exceso de ácido o cuando se calienta.

El mercurio da amalgamas con muchos metales, tales como el cobre o el oro.

1.2.3. Usos (4, 17, 23, 29, 30, 41, 50)

Se dice a veces que el mercurio es el metal de los mil usos; y si se estudia literatura del tema se encontrará que no es ninguna exageración. Esos usos pueden clasificarse en los tres grupos siguientes: 1) Usos casi permanentes, en los cuales el metal es de uso continuo o repetido, sin pérdida apreciable; 2) usos con desperdicio, en que el metal pasa por ciclos repetidos con alguna pérdida por fugas, absorción o pérdidas químicas, que tienen que reponerse periódicamente añadiendo metal nuevo; 3) usos efímeros, en los cuales el metal se pierde completamente, sin que pueda esperarse la recuperación.

Otra clasificación se relaciona con la forma en que se utiliza el mercurio, ya sea como metal o en forma de un compuesto. Los compuestos comerciales de mercurio se preparan siempre partiendo del metal, y no del mineral, de modo que en último término todos los usos se derivan del metal. Según la forma en que el metal se utiliza, los usos efímeros se relacionan casi todos ellos con compuestos químicos, mientras que los usos más permanentes exigen el metal.

El rasgo sobresaliente es la disminución en los usos efímeros y el aumento en los usos con desperdicio y en los usos casi permanentes, especialmente en estos últimos. Por otro lado, debe observarse que si bien ciertos tipos de usos efímeros han mostrado una disminución radical, una parte de esta reducción ha sido compensada por aumentos en otros tipos. Debido a esta disminución en los usos efímeros y el aumento de los usos más permanentes, la cantidad de metal en uso ha aumentado mucho más en el último decenio que en cualquier otro período análogo. Entre los usos efímeros, la demanda agrícola para el tratamiento fungicida de semillas explica la mayor parte del aumento que ha compensado parcialmente las pérdidas en otros usos en forma de compuestos. Los medicamentos y el

fulminato eran en otros tiempos los usos más importantes en forma de compuestos de mercurio; pero se han descubierto sustitutos que han reducido aquellos usos a una cifra conjunta inferior a la de la agricultura. El uso de óxido de mercurio en pinturas ha disminuido mucho por empleo de otras sustancias, y el riesgo de intoxicación ha conducido al abandono del nitrato de mercurio en la fabricación del fieltro. El fulminato de mercurio ha sido reemplazado en gran parte por otros compuestos fulminantes, y el uso del cinabrio como pigmento (bermellón) ha disminuido muchísimo.

Los usos en los cuales el mercurio se destruye figuran en gran parte en la industria química, principalmente como electrodos en celdas electrolíticas para la producción de sosa cáustica y cloro y como catalizador en síntesis orgánicas.

El notable aumento en la demanda de mercurio metálico en los últimos años ha ocurrido en el campo de los usos casi permanentes, especialmente en aparatos industriales y de control y en aparatos eléctricos. Ejemplos de éstos serían: equipos eléctricos, interruptores eléctricos, propulsor para motores iónicos, lámparas de vapor de mercurio, en bombas, termómetros y barómetros y en la obtención de NaOH-Cl_2 . Estos grupos han sido durante varios años los consumidores más importantes de mercurio. Entre las aplicaciones de los compuestos de mercurio se incluyen pesticidas o fungicidas, medicina (productos farmacéuticos), empastes dentales (amalgamas), baterías, catalizadores, instrumentos científicos, pinturas, detonadores, etc.

La partida final, "Usos Varios", incluye usos demasiado pequeños para ponerlos separadamente en la lista o de un carácter tal que no pueden revelarse. En esta última categoría figuran dos usos que exigen una mención especial. Durante los años de la guerra 1941 - 1945 la partida "Usos varios" era muy importante, pues fue necesario incluir en ella varios

usos bélicos sobre los cuales no podían publicarse separadamente los datos por razones de seguridad. Durante varios años incluyó también esta lista cantidades considerables de mercurio que se han empleado en instalaciones de calderas; ese metal no podía incluirse en la lista en su sitio normal bajo el encabezamiento de usos casi permanentes sin revelar información que las compañías interesadas consideraban confidencial. Fue la instalación de tres nuevas plantas de calderas lo que elevó la cifra de "Usos varios" hasta un nivel alto en 1948 y 1949, aunque una parte del mercurio necesario procedía de instalaciones anteriores que habían sido desmanteladas.

1.2.4. Toxicidad (4, 15, 17, 23, 27, 28, 29, 38, 41, 50)

El mercurio metálico no es tóxico más que en estado de vapor o de extrema división. Tomado por vía bucal, incluso en cantidades relativamente considerables, es casi siempre inofensivo.

Por el contrario, ejerce una acción enérgica sobre el metabolismo cuando se respira en estado de vapor, porque los pulmones absorben muy bien los vapores mercuriales (formación de albuminatos solubles que pasan a la circulación general), y, cuando éstos se emiten con abundancia, provocan accidentes tóxicos. Esto es lo que ocurre en las industrias en las que los obreros respiran constantemente estos vapores.

Finamente dividido, como en ciertas preparaciones galénicas (píldoras mercuriales, aceite gris), el mercurio ejerce una acción fisiológica intensa.

El aceite gris de la Farmacopea de 1937, que contiene 0,40 g de metal por mL, se absorbe de ordinario muy lentamente, pero puede suceder que, bajo influencias mal definidas, la absorción de mercurio acumulado después de varias inyecciones de aceite gris (o aceite de calomelanos) se

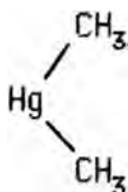
efectúa muy rápidamente para provocar intoxicación. Así, en una mujer que recibió 2,15 g de aceite gris en siete semanas, Kaposi vio aparecer los primeros síntomas de intoxicación catorce días después de la última inyección; la muerte sobrevino al cabo de un mes.

El mercurio, en forma de ion mercuríco, tiene gran toxicidad. Es un veneno celular general, cuya acción es, por lo demás, compleja. Provoca, entre otras cosas, la desintegración de los tejidos con formación de combinaciones proteíno-mercuriales solubles y, por bloqueo de las agrupaciones tioles (mercaptanos = "mercurium captans"), la inhibición de sistemas enzimáticos fundamentales y de oxidorreducciones celulares.

En general, se admite que la dosis mortal, en el caso del sublimado, es del orden de 0,30 a 0,40 g en un adulto normal. Pero ciertos sujetos son especialmente sensibles, particularmente los que presentan una deficiencia renal.

El cianuro de mercurio, $\text{Hg}(\text{CN})_2$, es muy tóxico, por el ácido cianhídrico y por el mercurio que contiene a la vez ⁽¹⁴⁾. Orfila publicó una observación de un hombre muy vigoroso que, después de haber absorbido de una vez 0,13 g de cianuro de mercurio, moría al noveno día, presentando síntomas de intoxicación mercurial.

En cuanto a los organomercuriales, el enmascaramiento del mercurio que encierran entraña en general una fuerte disminución de la toxicidad. Conservan, no obstante, la tendencia a provocar trastornos digestivos y renales y, además, producen a veces trastornos nerviosos (cefalea, signos meníngeos, ataxia y, en ciertos casos, demencia), que recuerdan los observados con los organomercuriales a la vez volátiles y liposolubles, como, por ejemplo, el dimetilmercurio ⁽³⁰⁾,



cuya toxicidad, muy alta, prohíbe todo empleo fitofarmacéutico.

Además, son a menudo origen de síntomas cutáneos de carácter alérgico.

Desde el punto de vista de la toxicidad crónica, la concentración máxima tolerable generalmente admitida en las atmósferas industriales para exposiciones repetidas es solamente de 100 μg de mercurio por m^3 . En los casos de los organomercuriales, la concentración admitida por los higienistas gubernamentales de los Estados Unidos es 10 veces menor, 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. Esta actitud se explica sin duda por el hecho de que, a dosis extremadamente mínimas, pero repetidas de forma prolongada, los organomercuriales se revelan capaces de provocar lesiones renales en los animales sometidos al experimento (Fitzugh y Nelson) (15).

Los hábitos alimenticios en las personas son tan diversos y las tolerancias individuales varían tanto que no se puede separar y dar niveles de "seguridad" o "toxicidad" exactos (18, 47).

1.2.5. Síntomas (15, 17, 41, 50)

Los síntomas de las intoxicaciones mercuriales difieren según el modo de absorción del tóxico. Ingeridos en fuertes dosis, los compuestos mercuriales provocan generalmente una intoxicación aguda o subaguda de sintomatología principalmente digestiva (fase inicial o de agresión tóxica) y renal (período de latencia (fase de anuria)). Inhalados, los vapores son causa de intoxicaciones crónicas, a menudo profesionales, en las cuales los accidentes nerviosos predominan; en cambio, los digestivos a veces no están representados más que por una estomatitis característica.

Intoxicaciones Agudas .- Para la descripción de los síntomas de envenenamiento agudo por compuestos mercuriales se puede tomar como

tipo la intoxicación causada por el sublimado, que es, con mucho, la más frecuente y a la que se parece el envenenamiento originado por la mayor parte de las sales solubles de mercurio.

Transcurridos cinco o seis días, con persistencia de la anuria, se instala un cuadro de uremia aguda con coma hipotérmico, que desemboca generalmente en la muerte. El carácter tardío de esta última es una de las características esenciales de la intoxicación.

Si, gracias a la terapéutica, el sujeto sobrevive, permanece durante largo tiempo pálido y asténico, con un adelgazamiento muy notorio. Como complicaciones particularmente temibles, hay que señalar el debilitamiento del miocardio, que puede desembocar en colapso cardiovascular.

Hay que resaltar también la gran lentitud de la curación, en parte debido al daño causado a diversos órganos esenciales, y, en particular, a los riñones, al hígado y a las suprarrenales, y, por otra parte, y sobre todo, a causa de la muy lenta eliminación del mercurio.

Intoxicaciones Crónicas .- Los trastornos digestivos de la forma aguda se hallan aquí atenuados, figurando la estomatitis en primera fila.

Pero lo que caracteriza la intoxicación crónica son los trastornos nerviosos. Lo más frecuente es el temblor mercurial, que aparece en la mandíbula, en las manos (prueba de escritura), y después en los miembros superiores y por último en los inferiores. Estos temblores, que se exageran con los movimientos, y otros muchos síntomas asociados: caminar cerebeloso, nistagmo, palabra acompasada, etc., pueden hacer pensar en la esclerosis en placas. Se han observado asimismo accesos de contracción dolorosa y raramente parálisis.

Los trastornos renales son mucho menos acentuados que en las intoxicaciones agudas.

1.3. Análisis de Mercurio (Toxicología Analítica)⁽¹⁵⁾

1.3.1. Identificación y Determinación en la Atmósfera

Si se deja a un lado los métodos de alarma como el de Nordlander (1927), reiterado por Briggs (1928), basado en el viraje al negro de un papel impregnado de sulfuro de selenio amarillo, los métodos utilizados para la determinación, de los cuales indicaremos solamente el principio, debido a que sólo se desea establecer (enmarcar el entorno) la ubicación del método empleado, comprenden esencialmente dos fases:

1º Captación.-

a) Por condensación en aire líquido con disolución ulterior en el ácido nítrico concentrado o el agua regia.

b) Por borboteo en un reactivo químico:

- solución yodoyodurada impregnando bolas de vidrio;
- hipobromito de sodio;
- permanganato en medio sulfúrico diluido al 10/100.

2º Determinación propiamente dicha, que puede realizarse:

a) Por procedimientos físicos y en particular por absorción en el ultravioleta, en cuyo caso no es necesario realizar una captación previa del mercurio, sino sólo recurrir a un tubo de ventana de cuarzo (Berton).

b) Por métodos químicos: son muy numerosos, los principales recurren a las reacciones sensibles con ditizona o mejor di-β-naftiltiocarbazona.

A continuación se citará algunos de los métodos químicos existentes.⁽⁵¹⁾

-En análisis volumétrico, volumetría: determinación con soluciones valoradas de yodato de potasio, yodatometría.

-En análisis gravimétrico, gravimetría: análisis gravimétrico sistemático como:

a) sulfuro mercúrico, HgS

b) tetratiocianatomercuriato de cinc, $Zn [Hg (SCN)_4]$

c) tetrayodomercuriato de bis (etilendiamina) cobre, $[Cu en_2] [HgI_4]$,
método de la etilendiamina

d) para-peryodato mercúrico, $Hg_5 (IO_6)_2$

Un ejemplo adicional es la técnica volumétrica de R. Truhaut y C. Boudene; basada en la volumetría por medio de di- β -naftiltiocarbazona, después de captación en permanganato sulfúrico.

Este método permite descubrir, a partir de una toma de aire de 5 litros, concentraciones de mercurio muy bajas, del orden de 10 μg por metro cúbico de aire.

Asimismo, en el caso de captación por solución yodoyodurada, se puede recurrir a la precipitación de yodomercuriato de un alcaloide y efectuar una determinación nefelométrica o, incluso, después de la alcalinización, precipitar el mercurio por medio de formol y hacer una determinación yodométrica.

1.3.2. Determinación en Medios Biológicos

La identificación del mercurio en las vísceras es delicada por dos motivos; en primer lugar, la cantidad existente en los órganos es relativamente pequeña, debido a la gran toxicidad de las sales mercuriales y de su eliminación parcial antes de la muerte; en segundo lugar, conviene tomar minuciosas precauciones en el curso de la mineralización, debido a la gran volatilidad del mercurio.

Se han propuesto numerosas técnicas, que comportan en general tres fases:

1. Destrucción de la materia orgánica

Puede efectuarse por el método de Ogier del cloro nascente, que ofrece

la ventaja de permitir operar en frío. Hay que tener cuidado, no obstante, de recoger los gases desprendidos para evitar toda pérdida. Si se recurre a la destrucción por los ácidos oxidantes, en general con coadyuvantes, tales como el permanganato de potasio y el perhidrol, hay que tener cuidado de adaptar al matraz en el que se efectúe la destrucción de las materias, un refrigerante de reflujo cuyo lavado permita recuperar los productos volátiles.

2. Concentración o enriquecimiento, para lo cual pueden ponerse en acción varios principios.

a) Precipitación por hidrógeno sulfurado en estado de sulfuro de mercurio, con arrastre por otro sulfuro, de cobre o de cadmio en general. A continuación se puede volver a disolver el sulfuro de mercurio, ya sea con agua regia, o mejor con hipobromito de sodio, que permite operar en frío. Se precipita ulteriormente el mercurio con formol. Si se emplea agua regia, la evaporación de ésta debe hacerse con grandes precauciones, pues el bicloruro de mercurio formado es volátil a la temperatura del baño maría. Se recomienda hacer la evaporación al vacío en un desecador en presencia de potasa en placas.

b) Precipitación en estado de mercurio metálico, en general por el hidrosulfito de sodio en medio alcalino, o por las sales estannosas (cloruro o sulfato) en medio ácido. Se puede entonces o disolver el mercurio precipitado, por ejemplo, por medio de una solución yodoyodurada o de hipobromito, o recurrir a un arrastre por vapor de agua, que permite una separación específica del mercurio (Fabre, Truhaut y Boudena), que se recoge en una solución sulfopermangánica.

c) Por extracción por medio del cloroformo en estado de complejo con la ditizona o la di- β -naftiltiocarbazona operando como en el caso de las atmósferas, a pH 1,5 y en presencia de la complexona III para eliminar la interferencia del cobre.

Si se adopta esta solución, conviene descomponer a continuación los complejos mercuriales por ácido sulfúrico al 15 por 100, que arrastra todo al mercurio.

3. Microdeterminación propiamente dicha, para lo cual se podrá recurrir, entre otros métodos: ⁽²¹⁾

a los métodos químicos como:

- a) colorimetría o a la fotometría por medio de ditizona o incluso de la di- β -naphiltiocarbazona,
- b) volumetría por medio de este último reactivo,
- c) nefelometría, después de la precipitación del mercurio en presencia de un coloide protector o de un yodomercuriato de alcaloide, en general, el yodomercuriato de estricnina,

a los métodos electroquímicos, por ejemplo:

- oxidimetría por medio de yodo,
- a la fluorescencia de rayos X,
- a la espectroscopía de absorción atómica,
- a la espectroscopía de emisión atómica por inducción plasma unido,
- a la espectrometría de masa,
- al análisis por activación neutrónica.

- En el caso de la orina se han propuesto diversos procedimientos rápidos.

1.3.3. Distribución en el Organismo

Incluso en las más fuertes impregnaciones mercuriales (intoxicaciones mortales), las proporciones retenidas por cada órgano son pequeñas, como lo muestra el cuadro siguiente, que recoge las cifras halladas en el curso de una serie de determinaciones.

Tabla 1: Distribución del Mercurio en los Organos

Organo	Cantidades halladas en <u>mg por 100 g</u>
Riñones	2 a 6
Hígado	0,3 a 3
Bazo	0,3 a
Corazón	0,20 a 0,40
Cerebro	0,15 a 0,20

En general, se halla por lo menos dos o tres veces más mercurio en el riñón que en el hígado en caso de intoxicación mortal. En un tratamiento mercurial, el porcentaje renal es por lo menos cuatro veces más elevado que el porcentaje hepático. El metal se halla todavía varios meses después de una cura mercurial, cualesquiera que sean la modalidad de administración y la naturaleza del producto administrado.

Esta localización cuadra con el síndrome renal que caracteriza la intoxicación aguda por mercurio. Igualmente, la débil localización cerebral puede justificar la ausencia práctica de síntomas nerviosos.

1.3.4. Eliminación

La eliminación del mercurio se efectúa sobre todo por la orina y por el tubo digestivo, pero también por la saliva, por la bilis, por la leche y por el sudor.

Esta eliminación es muy lenta. El mercurio se fija, efectivamente, en el organismo, especialmente en el hígado, en los riñones, en los huesos, en el cerebro, de donde no se elimina después más que poco a poco. En particular, en los individuos que han estado sometidos a un tratamiento mercurial prolongado, la eliminación puede durar años.

La eliminación depende de la modalidad de administración y, en general, la orina es aproximadamente dos veces más rica en mercurio que la sangre.

Pero los riñones, a los que el mercurio lesiona, no constituyen más que una vía de eliminación accesoria, siendo la vía principal el intestino y el hígado.

La eliminación fecal es variable, según la naturaleza de las sales administradas. Representa, en general, la décima parte de las cantidades de mercurio absorbidas.

La eliminación salivar es débil, pero constante.

La eliminación sudoral es igualmente débil, pero no obstante es importante considerarla, en razón de la superficie corporal, y paliar la mala filtración al nivel de los riñones.

Cierto número de compuestos son susceptibles de provocar una aceleración de la eliminación urinaria del mercurio.

1.4. Análisis por Activación Neutrónica (24, 50)

El análisis por activación en general podría definirse como un método analítico basado en la producción y la medida de la radiactividad inducida en las muestras mediante bombardeo de las mismas con partículas nucleares. En concreto, en el caso del análisis por activación neutrónica, las partículas nucleares utilizadas para el bombardeo serían los neutrones de una fuente apropiada, tal como el reactor nuclear, un generador de neutrones o una simple fuente de neutrones de laboratorio.

Con el bombardeo de las muestras con neutrones los núclidos presentes en las mismas sufren reacciones nucleares que conducen a la producción, en mayor o menor grado, dependiendo del núclido y de las características del bombardeo, de productos radiactivos específicos para cada núclido, cuya identificación y medida cuantitativa de la cantidad formada,

permite no sólo identificar los componentes de la muestra sino también realizar un análisis cuantitativo de los mismos. Como a su vez cada núclido radiactivo es perfectamente identificable por el tipo y energía de las radiaciones emitidas y por su período de semidesintegración, características únicas para cada núclido y que no se duplican en ningún caso conocido, el análisis por activación es un análisis muy específico, cuando se utiliza en la irradiación de las muestras un solo tipo de partículas y de una energía determinada.

Un análisis por activación neutrónica consta fundamentalmente de dos etapas principales: producción de la actividad mediante la irradiación con neutrones, e identificación y medida de la misma mediante los detectores adecuados. Sin embargo, como todos los núclidos componentes de la muestra producen isótopos radiactivos, es preciso medir selectivamente la actividad del radionúclido o radionúclidos deseados en presencia de otras actividades. Muchas veces es posible lograr esta meta, empleando la técnica de la espectrometría gama con los modernos detectores de la radiación gama, pero en otras ocasiones ello no es posible, bien debido a tratarse de emisores beta puros, bien debido a la existencia de otras actividades predominantes, que enmascaran y perturban la medida de la actividad deseada. En estos casos, es necesario recurrir al empleo de separaciones radioquímicas, para aislar convenientemente la actividad o actividades deseadas del resto. En este caso hay que añadir una etapa más al análisis, la etapa de la separación radioquímica, que está intercalada entre la irradiación y la medida de la actividad.

El proceso de la activación es el proceso fundamental del análisis por activación neutrónica, y por ello la ecuación matemática de la activación juega un papel trascendental en el método analítico, dado que nos permite el tratamiento cuantitativo de los datos analíticos para obtener los resultados, si bien de muchos de los parámetros que interviene en la

mismo no es necesario conocer sus valores numéricos exactos, al utilizarse el método del comparador. Sin embargo, el conocimiento de la ecuación general de activación es imprescindible en muchos otros casos, como cálculos de sensibilidades, de posibles interferencias, etc., así como para tener los criterios analíticos indispensables para utilizar el método de la activación neutrónica.

1.4.1. Teoría (24, 50)

La ecuación general de activación, corregida por desintegración radiactiva es:

$$A = \frac{6.02 \cdot 10^{23} \cdot W \cdot \sigma \cdot (1 - \exp(-t \cdot \ln 2 / T_{1/2})) \exp(-t_1 \cdot \ln 2 / T_{1/2})}{M} \quad (1)$$

refiriéndose A a la actividad absoluta producida del radionúclido expresada en desintegraciones por segundo (d.p.s.) en una irradiación de un tiempo de duración t, medida un tiempo t₁ después del final de la irradiación.

En la ecuación el tiempo t se puede expresar en cualquier unidad siempre que se exprese en las mismas unidades que el período de semidesintegración T_{1/2} del radionúclido producido, y la actividad A viene siempre dada en desintegraciones por segundo.

La ecuación general de activación dada anteriormente es la ecuación básica del Análisis por Activación. Para calcular el peso del elemento W existente en la muestra irradiada hay que reordenar la fórmula:

$$W = \frac{A \cdot M}{6,02 \cdot 10^{23} \cdot \sigma \cdot (1 - \exp(-t \cdot \ln 2 / T_{1/2})) \exp(-t_1 \cdot \ln 2 / T_{1/2})} \quad (2)$$

siendo:

ϕ el flujo de neutrones o partículas bombardeantes expresado en neutrones por centímetro cuadrado por segundo ($n \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{seg}^{-1}$).

σ la sección eficaz de activación para el isótopo considerado, expresada en barns (10^{-24}cm^2).

λ la constante de desintegración del núclido radioactivo formado, que es igual a $\ln 2 / T_{1/2}$.

$6,02 \times 10^{23}$ el número de Avogadro.

W el peso de elemento existente en la muestra irradiada expresado en gramos.

B la abundancia isotópica del isótopo que sufre la reacción nuclear expresada en tanto por uno.

M es el peso atómico del elemento considerado.

partiendo de la base que todos los parámetros que figuran en el segundo miembro de la ecuación se conocen.

1.4.2. Métodos de Análisis por Activación (24, 50)

En la presente sección se tratan de un modo general, los diversos métodos posibles para realizar los análisis por activación neutrónica. Aquí se trata únicamente de dar una visión de conjunto de las amplias posibilidades que ofrecen los métodos de activación neutrónica.

1.4.2.1. Método Absoluto

Se vio que la ecuación general de activación en su forma (2) permite calcular el peso en gramos W del elemento irradiado en función de las características nucleares del núcleo blanco, y del producto y los parámetros de la irradiación, midiendo la actividad del núcleo blanco, y del producto y los parámetros de la irradiación, midiendo la actividad del núcleo radioactivo formado, conociendo necesariamente todo esto con la

mayor exactitud posible.

Se puede decir que los resultados obtenidos por el método absoluto, están sujetos a una gran imprecisión, y pueden estar sometidos a errores sistemáticos importantes, para cada caso concreto, lo que hace que en la práctica el método absoluto de activación se utilice en raros casos y la mayoría de las veces se utilice el método del standard o del comparador.

Por otro lado, quizá la única ventaja del método sea que se necesita realizar menos trabajo de laboratorio que empleando el método del comparador.

1.4.2.2. Método del Comparador o Standard

Para eliminar los inconvenientes del método absoluto en la práctica lo que se realiza es el método del comparador o standard, que consiste en irradiar simultáneamente con las muestras desconocidas un peso conocido del elemento o elementos a determinar y medir la actividad relativa de la muestra y del comparador, con el mismo detector y en las mismas condiciones geométricas para ambas muestras y para el conjunto muestra/detector.

Entonces aplicando la ecuación (2) tanto para la muestra, como para el comparador se obtendría dos ecuaciones similares, que divididas entre sí, después de sustituir los valores de las actividades absolutas para la muestra y para el comparador por sus actividades relativas por la constante de proporcionalidad desconocida, que desaparece al dividir, quedaría la relación de Boyd:

$$\frac{A_m}{A_c} = \frac{W_m}{W_c} \quad (3)$$

Siendo A_m y A_c las actividades relativas, medidas en nuestro equipo de medida en las mismas condiciones, correspondientes a la muestra

desconocida y al comparador respectivamente. Por supuesto que estas actividades están corregidas por las diferencias de tiempo en la medida de las mismas debida a la desintegración radioactiva, corrección muy fácil de efectuar, conociendo el período de semidesintegración del radionúclido medido.

W_m y W_c son respectivamente el peso del elemento blanco en la muestra y en el comparador.

De la ecuación (3) se puede despejar fácilmente el peso del elemento a determinar en la muestra desconocida:

$$W_m = W_c \frac{A_m}{A} \quad (4)$$

El método de análisis por activación utilizando comparadores o standard es el más utilizado y generalmente aceptado por todos los autores, debido a su simplicidad, e independencia de las constantes nucleares del núclido bombardeado y del producto de la reacción. Requiere únicamente irradiar los comparadores de peso conocido simultáneamente con la muestra en posiciones muy próximas donde reciban el mismo flujo neutrónico, o bien corregir con monitores si existen diferencias apreciables del flujo, procesar y medir las muestras y los comparadores con el mismo detector y en las mismas condiciones.

1.4.2.3. Método del Patrón Interno

Una variante del método del comparador es el método del patrón interno, que se usa en algunas ocasiones, para corregir errores debidos a auto-absorción del flujo neutrónico en el interior de las muestras, cuando éstas contienen grandes cantidades de uno o varios elementos con altas secciones eficaces de activación o absorción de neutrones, lo que provoca una atenuación del flujo neutrónico en el interior de la misma y como

consecuencia una activación diferente de la muestra y del comparador, produciendo errores en el resultado del análisis.

El método del patrón interno fue descrito por Hoste, Lelieert y Eeckhaut, en 1958, y es relativamente poco usado, y sólo se recomienda su empleo en este tipo de muestras, debido a la necesidad de manipular las muestras antes de la irradiación.

Como es lógico, en el caso del método del patrón interno no hay necesidad de irradiar un comparador, ni de tener en cuenta las diferencias de flujo neutrónico en las diferentes posiciones de irradiación, ya que éstas son corregidas automáticamente por el factor σ .

Hoste y colaboradores hacen notar que si la activación se realiza con neutrones térmicos el método del patrón interno da unos resultados excelentes, pero que si existe en el flujo neutrónico una proporción apreciable de neutrones de resonancia, es necesario tener en cuenta la posibilidad de máximos de resonancia distintos para los elementos, con lo que el método puede conducir a resultados erróneos

1.4.2.4. Métodos Destructivos y No Destructivos

El análisis por activación neutrónica consta de dos etapas esenciales, irradiación de la muestra con neutrones, y medida de la actividad producida. En este esquema simplificado es indudable que se puede realizar el análisis en forma no destructiva. Una muestra tiene una composición compleja y "todos" los núclidos existentes en la muestra se activan al ser irradiada con neutrones, originando diversos productos radiactivos que decaen emitiendo diversos tipos de radiaciones con diversas energías y cada uno de ellos con su propio período de semidesintegración. Entonces la posibilidad de realizar un análisis no destructivo depende fundamentalmente de dos factores: a) de la selectividad y especificidad de nuestro instrumento de medida y b) del resto de las actividades presentes

en la muestra irradiada, de tal forma que nuestro equipo de medida sea capaz de medir la radiación del radionúclido o radionúclidos a determinar sin que interfieran el resto de las actividades presentes en la muestra irradiada.

La posibilidad de realizar un análisis no destructivo o instrumental, depende en primer lugar del detector y la técnica utilizada para la medida. En los primeros tiempos del análisis por activación, sólo se disponía para la medida de la radiactividad de los detectores Geiger y de los detectores proporcionales, incapaces de distinguir entre partículas de diferentes energías, por lo que los análisis tenían que realizarse necesariamente de forma destructiva, empleando una separación radioquímica para aislar el radionúclido de interés en forma pura antes de proceder a la medida de su actividad, siendo necesario comprobar cuidadosamente su estado de "pureza radioquímica", para evitar la presencia de otras actividades que nos indujeran a error.

La aparición de la técnica de la espectrometría gamma, con detectores de yoduro sódico, y más recientemente con detectores semiconductores de germanio-litio ha aumentado las posibilidades de la realización de análisis no destructivos o instrumentales frente a los análisis destructivos o radioquímicos, como frecuentemente se les llama.

La decisión última sobre la técnica más conveniente para cada caso concreto es difícil y sujeta a numerosas variables y críticas.

Ambos métodos, el puramente instrumental y el radioquímico, tienen sus ventajas e inconvenientes.

1.4.2.5. Análisis por Activación empleando Elementos de Período Corto

El análisis por activación empleando radionúclidos de período corto tiene unas características especiales. Por supuesto este tipo de radionúclidos pueden producirse por cualquier tipo de reacción nuclear,

bien con neutrones térmicos, de resonancia o rápidos; el hecho predominante en todos los casos es el período de semidesintegración del isótopo producido, lo que les da unas características especiales.

Realmente no hay límite claro en el período de los radionúclidos que permite dividirlos en períodos largos y cortos sino que este límite es completamente artificial.

En general, se considera que los radionúclidos con período menor de 0,5 o 1 hora son de período corto.

Asimismo se considera como radionúclidos con período ultracorto aquellos que tienen un período del orden de segundos, generalmente los inferiores a un minuto.

La decisión entre el empleo de isótopos de período corto o período largo es una materia sujeta a muchas variables y no puede darse una regla general, pues depende de cada caso concreto, del elemento a analizar y de la composición de la muestra.

Si los elementos de la matriz forman principalmente isótopos de período largo y el elemento a determinar tiene un isótopo que produce un radionúclido de período corto, puede aconsejarse realizar el análisis mediante isótopos de período corto. Si ocurre exactamente lo contrario, lo aconsejable es dejar decaer los isótopos de período corto producidos por la matriz y medir el isótopo de período largo de interés.

La elección de un isótopo u otro estará basada en la composición de la matriz, y las características de sus productos de activación entrando en juego todas las variables y todos los criterios expuestos, al estudiar la selección de la reacción nuclear más apropiada para el análisis.

En los últimos tiempos se nota una tendencia creciente hacia el empleo en análisis por activación neutrónica de los elementos que producen isótopos de período muy corto, del orden de segundos, a causa de

que los inconvenientes prácticos debido a su corto período, pueden en muchos casos convertirse en ventajas, mediante el perfeccionamiento de los equipos disponibles y la mejora de la técnica. Mientras que para los elementos con período superior a 15 segundos se pueden utilizar tubos neumáticos convencionales y colocar las muestras sobre el detector para la medida de la actividad de forma manual, para los elementos con período de menos de 15 segundos ha sido necesario introducir profundas modificaciones en los sistemas neumáticos existentes o desarrollar otros completamente nuevos.

Algunas de las dificultades que ha sido necesario vencer para el empleo eficaz de los radionúclidos de período ultra-corto son las siguientes:

- a) Equipos de medida capaces de soportar velocidades de contaje muy altas y variables durante un corto tiempo de medida de la muestra y que realicen una buena corrección por tiempo muerto durante la medida.
- b) Controlar con gran precisión el tiempo de irradiación, el tiempo de decaimiento y el de medida de las muestras.
- c) Desarrollar sistemas neumáticos de transporte de muestra de alta velocidad y mecanismos automáticos y rápidos para sacar la muestra del envase en el que se ha irradiado, y colocarla en posición sobre el detector.

1.4.2.5.1. Empleo de Pulsos de Neutrones

Una herramienta poderosa para el empleo del análisis por activación con elementos de período corto, es la utilización de los pulsos neutrónicos, que se pueden producir en algunos tipos de reactores nucleares. Por ejemplo los reactores nucleares tipo TRIGA pueden ser pulsados satisfactoriamente y reproduciblemente, a intervalos de cada 6 minutos, debido a su poder de autorregular automáticamente la potencia de operación, gracias al gradiente negativo de reactividad de sus elementos

combustibles con la temperatura. El pulso se realiza extrayendo la barra de control del reactor. La potencia de operación se dispara, el reactor se vuelve supercrítico y el flujo neutrónico sube en un tiempo muy corto de su nivel de 10^{12} neutrones por $\text{cm}^2 \text{seg}^{-1}$ en la operación normal a 10^{16} o 10^{17} neutrones por $\text{cm}^2 \cdot \text{seg}^{-1}$. Esta excursión, que equivale a una potencia de 900 a 1000 MW, se anula muy rápidamente a causa de la elevación de la temperatura de los elementos combustibles y de que su coeficiente de reactividad es negativo.

Este tipo de análisis no puede competir en costo con otras técnicas analíticas debido a los elevados costos de inversión y de mantenimiento de un reactor nuclear, que ha de ser dedicado prácticamente para la realización de los análisis, pues mientras se está pulsando, no puede ser dedicado en la práctica a ningún otro tipo de actividad. Sin embargo, dada la escasez de métodos que permitan la determinación de cantidades mínimas de muchos elementos ligeros con suficiente sensibilidad y que el único medio de determinarlos parece ser el uso de pulsos neutrónicos con reactores, parece que puede ofrecer un futuro interesante esta técnica.

1.4.2.5.2. Tubos Pneumáticos

La posibilidad de la realización práctica de los análisis por activación empleando núclidos de período corto o ultra-corto depende de la disponibilidad de métodos de transporte ultra rápidos de la muestra irradiada del reactor al equipo de medida. Ello se realiza mediante tubos pneumáticos para la transferencia de muestras, conocidos comúnmente con la palabra inglesa "rabbits".

Los sistemas de transferencia por tubos pneumáticos se dividen en dos categorías principales: los operados por presión y los operados por vacío.

1.4.2.6. Métodos Especiales de Análisis - Análisis por Activación Empleando los Rayos Gama Inmediatos

El análisis por activación con rayos gama inmediatos o análisis por activación de captura de neutrones como es también indistintamente llamado, está basado en la medida del rayo gama emitido en la desintegración del núcleo compuesto formado como primera etapa de la reacción nuclear de captura de neutrones. Como esta desintegración tiene lugar instantáneamente en un tiempo muy breve (de 10^{-12} a 10^{-16} segundos), la irradiación de la muestra y la medida del rayo gama inmediato (prompt-gamma) han de ser simultáneas.

En este método la intensidad de la radiación gama emitida depende exclusivamente del número de reacciones producidas, que viene influido solamente por la sección eficaz de captura de neutrones del núcleo blanco y no tiene ninguna influencia el período de semidesintegración del núcleo formado.

El proceso de captura de radiación resulta en la formación de un núcleo compuesto excitado que decae por la emisión de radiación gama de energía característica, bien en forma de un simple fotón, cuya energía cinética es igual a la energía de excitación del núcleo compuesto menos la energía de retroceso del núcleo, o bien emitiendo dos o más fotones en cascada con la misma energía total, cosa que ocurre con más frecuencia.

Este tipo de análisis puede usarse con ventaja sobre el análisis por activación neutrónica clásico en aquellos casos en que el núcleo producido en la activación tenga propiedades que hagan difícil o imposible la realización del mismo.

Los elementos que son especialmente apropiados para realizar análisis por activación mediante el empleo de la radiación gama inmediatos son aquellos que tienen: o una abundancia isotópica mayor del 50 %, o una sección eficaz de captura mayor que 100 barns y que producen isótopos

estables, o producen radionúclidos de período muy corto (de menos de un minuto) o de período muy largo de más de 100 años. Un gran número de elementos reúnen estos criterios y por tanto el proceso analítico mediante la medida de los rayos gama inmediatos puede competir con el análisis por activación clásico.

El método de análisis empleando la medida de la radiación gama inmediata, es pues un método que puede complementar el margen de elementos determinables por activación neutrónica.

1.4.3. Instrumentación (24, 45, 50)

Los métodos de medida de las radiaciones están basados en dos principios básicos: la ionización por la radiación de las moléculas de un gas (detectores proporcionales y Geiger Müller) o la excitación de los átomos de un material sólido, que produce luminiscencia (detectores de centelleo), o la ionización del sólido (detectores semiconductores). Los principios básicos de la ionización de los detectores semiconductores, son en principio semejantes a los de los gases, únicamente varían en que la transmisión de las cargas es realizada por los electrones y los espacios vacíos de electrones o "agujeros" de la red cristalina. Los detectores semiconductores son del tipo de detector más utilizado en los últimos tiempos en el análisis por activación moderno.

En general todos los equipos de detección de radiación son equipos de producción y contaje de pulsos o impulsos eléctricos. La salida del detector produce un impulso eléctrico por cada partícula o fotón detectado, y estos pulsos están espaciados en el tiempo, de acuerdo con el momento en que se produce la interacción de la radiación con el detector. Estos pulsos son amplificados y contados por equipos electrónicos adecuados, llamados escalas o escalímetros, que miden el número de interacciones ocurridas durante el período de observación o medida. En

general las escalas van provistas de medidores de tiempo electrónicos que nos permiten controlar automáticamente el tiempo de medida deseado.

Los equipos modernos de detección de la radiación no sólo determinan el número de interacciones ocurridas por unidad de tiempo, o sea la velocidad de recuento o contaje, sino que también en mayor o menor grado permiten determinar el tipo y la energía de la radiación. Los sistemas que permiten una discriminación, selección o medida de la energía de la radiación son llamados espectrómetros, y modernamente se dispone de espectrómetros para determinar la energía de la radiación, alfa, beta y gama, siendo estos últimos los más utilizados y empleados en análisis por activación.

La espectrometría gama es una herramienta fundamental en el análisis por activación moderno. Los espectrómetros de rayos gama se basan en que bajo ciertas condiciones la amplitud de cada pulso eléctrico es proporcional a la cantidad de energía depositada por la radiación gama en el detector, y en la existencia de equipos electrónicos (analizadores de altura de impulsos) capaces de clasificar los impulsos eléctricos de acuerdo con su amplitud. Estos equipos conocidos como analizadores multicanales, que están provistos de un convertidor analógico digital, una memoria magnética para almacenar el número de impulsos recibidos de cada tamaño y equipos diversos de presentación y salida de los datos, son hoy en día los equipos más comúnmente utilizados en la práctica del análisis por activación, especialmente en su modalidad no destructiva.

1.5. Análisis por Activación de Mercurio en Muestras Ambientales ⁽⁵²⁾

El análisis por activación de neutrón ha sido aplicado para determinar el mercurio en una variedad de muestras ambientales (Tabla 2) y hasta ahora ha jugado un rol importante en la investigación ambiental con relación a la polución de mercurio.

Tabla 2 : Determinación de mercurio en muestras ambientales por AAN

<u>Tipo de muestras</u>
Aire
Aguas
Suelos, sedimentos, rocas
Tejido vegetal
Tejido animal
Tejido humano
Fluido biológico
Alimentos
Carbón, Aceite mineral
Otras matrices

Las virtudes de éste método: Debido a su alta sensibilidad, y la posibilidad de aplicación en varias muestras hacen que este método sea atractivo.

Por otro lado, el alto costo, la limitada disponibilidad de facilidades de irradiación, el tiempo que se dedica a los análisis (debido a la irradiación y al enfriamiento) son importantes restricciones y limitan el uso del método, particularmente en trabajos de rutina. Con el desarrollo de la absorción atómica la determinación del mercurio aumenta cada vez más llevado a cabo con la ayuda de ésta última técnica. Sin embargo, parece que el análisis por activación permanecerá como método de referencia y un anclaje, para cuando los otros métodos fallen.

1.5.1. Tratamiento Pre-irradiación

El tratamiento de las muestras antes de la irradiación introduce un blanco por lo cual una de las muchas virtudes del análisis por activación es perdida. Además, la concentración de mercurio en algunos reactivos puede ser muy significativa y afecta desfavorablemente la determinación del bajo límite. Por otro lado la concentración de mercurio en algunas muestras ambientales es extremadamente baja (por ejemplo en aguas). En tales casos es indispensable la preconcentración.

También se puede utilizar la preconcentración por el secado por congelamiento, tema abarcado en discusión de resultados. Otro medio de preconcentración es la separación del mercurio de las muestras antes de la irradiación. La deposición de mercurio en discos plásticos cubiertos por una hoja de aluminio (que fué irradiada) y destilación por vapor fueron usadas para separar el mercurio de la orina. El mercurio fué separado del agua por deposición en paladio negro saturado con hidrógeno. Extracción con ditizona fué también usada. Los extractos fueron luego depositados en películas plásticas o papel filtro para irradiación. Papeles impregnados de resina y espuma de poliuretano pretratada con H_2S (bajo condiciones especiales) han sido propuestos para la separación de $Hg(II)$ y metilmercurio del agua antes de la activación. La precipitación del Co en CuS fué aplicada para separar el mercurio del agua de mar. La adsorción de carbón activado fué usada para preconcentrar mercurio orgánico e inorgánico del aire y del agua.

El contenido de sodio en pescado de mar fue considerablemente reducido lavando las muestras con agua antes de la irradiación sin ninguna pérdida de mercurio.

La separación de mercurio antes de la irradiación es necesaria cuando los agomercuriales deben ser distinguidos de mercurio inorgánico. La

separación no puede llevarse a cabo después de la irradiación por la baja retención de los compuestos de mercurio orgánico después de la irradiación.

1.5.2. Irradiación

El análisis por activación neutrónica en muestras ambientales es comúnmente llevado a cabo con la ayuda de reactores neutrónicos y densidad de flujo neutrónico termal del orden de $10^{12} - 10^{13} \text{ n.cm}^{-2}.\text{seg}^{-1}$. Irradiación de densidades de alto flujo fué llevada a cabo ocasionalmente

Los períodos de irradiación varían de pocas horas a varios días y semanas para ^{197}Hg y ^{203}Hg respectivamente.

Las diferencias del flujo neutrónico que son usualmente descuidados para pequeñas muestras pueden ser significativas en muestras de gran volumen. Soportes rotativos montados en canales de irradiación fueron usados para obtener exposición uniforme en todas las muestras irradiadas y estándares.

Para soluciones de gran volumen de termalización de neutrones puede resultar en diferencias de flujo hasta 10 %.

La irradiación de muestras ambientales y estándares es usualmente llevada a cabo en ampollas selladas de cuarzo. Para cortos períodos de irradiación son usados envases de polietileno, sin embargo son posibles pérdidas de mercurio. Pérdidas de mercurio durante la irradiación y medios de su prevención son vistos en discusión de resultados.

Gofen y colaboradores usaron una fuente 40 kCi Po-Be para irradiar muestras de semilla de 2 kg cubiertas con organomercuriales. Handley y De Carle usaron fuente ^{252}Cf para irradiar grandes volúmenes de agua de manera de determinar el mercurio por medición de rayos gama pronto. Sahrstiani y Abbas usaron del reactor de resonancia de neutrones cuando determinaron el mercurio en materiales biológicos.

1.5.3. Medición de Actividad

La verificación del mercurio en muestras ambientales es comúnmente llevada a cabo en la base del espectro de rayos gama de radioisótopos de mercurio.

Desde la aparición de los detectores de medición Ge(Li) de espectros gama cada vez se usan más para esta medición.

Debido a la resolución acrecentada comparándola con la de detectores NaI(Tl), el uso de detectores Ge(Li) permite evitar muchas interferencias radiométricas y es de vital importancia en AAN no destructivo. No obstante, los detectores NaI(Tl) son usados particularmente en conexión con la separación radioquímica de mercurio. Otros detectores son raramente usados. Los contadores GM fueron usados en los primeros trabajos. Los contadores de centelleo fueron usados ocasionalmente. Los espectrómetros gama con Ge(Li) y NaI(Tl) con detectores de fotón de baja energía (LEPD) fueron también usados. Debido a la baja eficiencia para los rayos gama con alta energía los LEPD son una ventaja en el AAN no destructivo donde la baja eficiencia para los rayos gama de mercurio son medidos en la presencia de rayos gama más energéticos de los componentes de la matriz.

Becker y trabajadores usaron el detector Ge(Li) con un protector anti-coincidente para reducir las interferencias de la matriz en análisis no destructivos.

1.5.4. Técnicas No Destructivas de la Determinación del Mercurio (1, 5, 26, 43, 48)

El AAN no destructivo ha sido usado extensamente para la determinación del mercurio en muchas formas de matrices importantes ambientales (Tabla 3). Mientras que los primeros trabajos fueron llevados a cabo por medio de espectrómetros de centelleo, el trabajo reciente toma ventaja de

los espectrómetros Ge(Li). La determinación de mercurio es usualmente una parte del análisis multielemento en el cual varias decenas de elementos son determinados. Pocos trabajos tratan con la determinación no destructiva de mercurio solo.

Tabla 3 : Determinación no destructiva de mercurio
en muestras del medio ambiente

<u>Tipo de muestra</u> _____	
Partículas en el aire	
Aguas	
Materiales biológicos	tejidos vegetales
	tejidos animales
	tejidos humanos
	fluidos biológicos
	alimentos
Carbón, cenizas , aceites	
Otras matrices	

La determinación no destructiva de mercurio en matrices ambientales está comúnmente basada en la medición del fotopico a 279 KeV del radioisótopo de vida media larga ^{203}Hg ($T_{1/2} = 45,59 \text{ d}$) después de un período de enfriamiento adecuado (hasta por varias semanas) para permitir que decaigan los radioisótopos de la matriz. El radioisótopo ^{197}Hg ($T_{1/2} = 64,1 \text{ h}$) ha sido usado mucho menos debido a su baja energía de rayos gama (67 - 78 KeV) y puede ser difícilmente medido en presencia de alta actividad en los radioisótopos de la matriz. La actividad de la matriz puede ser largamente suprimida usando espectrómetros con LEPS o protectores

anticoincidentes. Otra aproximación es separar los componentes principales de la matriz (por ejemplo Na) antes de la medición del espectro de los rayos gama de la muestra. Sahrstani y Abbas llevaron a cabo la activación con neutrones de resonancia (y midieron los rayos gama ^{199m}Hg ($T_{1/2} = 43\text{m}$)) de manera de suprimir la actividad de la matriz. La determinación no destructiva de mercurio (en agua) fue llevada a cabo por la medición de rayos gama pronto (4,5 -6,5 MeV) durante la activación de una fuente ^{252}Cf .

Los análisis no destructivos de mercurio pueden estar sujetos a interferencias radiométricas u otros radioisótopos presentes en la particular muestra cuya energía es similar a la de los radioisótopos de mercurio. El fotopico de 280 KeV de ^{75}Se ($T_{1/2} = 120\text{ d}$) interfiere con la medición del fotopico de 279 KeV de ^{203}Hg (12, 13, 18, 19, 20, 25). La presencia de selenio puede hacer la determinación de mercurio imposible o deteriorar la sensibilidad de la determinación de mercurio. Cuando el contenido de selenio es bajo correcciones adecuadas pueden ser hechas en base a otros fotopicos de ^{75}Se .

La contribución de ^{75}Se del fotopico de 279 KeV de ^{203}Hg no debe exceder del 20% (18). Para pesos iguales de Se y Hg y a 24 hrs de irradiación el cociente de fotón de 280 KeV ^{75}Se a 279KeV ^{203}Hg iguala a 0,06.

Otra interferencia radiométrica es la radiación "bremsstrahlung" de ^{32}P (12). Esta interferencia es de importancia cuando el contenido de fósforo es alto, particularmente si son medidos los rayos gama de baja energía de ^{197}Hg .

Cuando la determinación no destructiva de mercurio está basada en la medición de baja energía del fotopico (67 - 69 KeV) de ^{197}Hg son posibles muchas interferencias. Primero que nada los componentes de la matriz,

particularmente ^{24}Na ($T_{1/2} = 12,96 \text{ h}$) y ^{82}Br ($T_{1/2} = 35,34 \text{ h}$) (13, 18, 20, 22, 43), hacen el rendimiento difícil para el fotopico de ^{197}Hg , ya que el último aparece en el Compton continuo de los más energéticos rayos gamma de éstos radioisótopos. Una importante interferencia es la de ^{198}Au (13, 18, 22), cuyos fotopicos de energía de 70,8 y 80,3 KeV no están resueltos de aquellos de ^{197}Hg .

La importancia de esta interferencia no puede sobreestimarse porque la activación del neutrón de sección eficaz de oro es muy alta y la vida media de ^{198}Au ($T_{1/2} = 64,8 \text{ h}$) es muy similar a la de ^{197}Hg .

En casos favorables las correcciones en las bases del fotopico de 412 KeV ^{198}Au son posibles. Aunque en los trabajos dedicados a la determinación no destructiva de mercurio (basados en ^{197}Hg) la interferencia de ^{198}Au no era observada, fue observada en trabajos de separación radioquímica de mercurio y para algunas muestras ambientales (por ejemplo orina, leche); la separación de oro del mercurio fue necesaria.

Interferencias de ^{197}Pt son posibles aunque poco probables, de la misma manera de parte de ^{153}Sm y ^{169}Gd .

El bajo límite de determinación de mercurio por métodos no destructivos es altamente independiente del tipo de muestras y de la presencia de elementos interferentes como P y Se (12, 22). Por ejemplo, en la presencia de selenio el bajo límite de la determinación (ppm) de mercurio (^{203}Hg) es igual a $0,02n$, donde n es el peso de Se (ppm).

Parece que es de poco uso establecer un valor general del bajo límite de la determinación de mercurio. La información dada en la Tabla 4 da una idea de qué puede esperarse con un tipo definitivo de material.

Tabla 4 : Bajo limite de determinación en AAN no destructivo

Tipo de muestra	Bajo límite de determinación ppb
Agua	0,08
	0,5
	20000* **
Aire	0,5 ng/m ³
Particulas de aire	0,001 ng/m ³
	2,7 - 7,7 ng/m ³
Alimentos	20
	100
	200 - 1000
Granos	5000*
Carbón	600
Aceite crudo	4,3

* Irradiación en una fuente de neutrón isotópico

** Medida de rayos gamas prontos

La precisión de técnicas no destructivas abarca aproximadamente 10% a varios cientos de porcentaje dependiendo del contenido de mercurio y del tipo de muestra.

Los métodos no destructivos de determinación de mercurio son de gran valor cuando el mercurio es determinado sumado a grandes números de elementos o cuando el contenido de mercurio es relativamente alto, por ejemplo en semillas tratadas.

En el caso de análisis de multielementos la evaluación del espectro gama es llevada a cabo más y más con la ayuda de computadoras.

Los métodos no destructivos son simples pero un largo período de enfriamiento es necesario. Si el contenido de mercurio es bajo o si se desea una gran precisión es necesario usar técnicas destructivas.

1.5.5. Métodos Destructivos de la Determinación de Mercurio ⁽²⁰⁾

Los métodos destructivos han sido mucho más usados para la determinación de mercurio que aquellos no destructivos. Ellos pueden ser aplicados a cualquier tipo de matrices ambientales en cualquier orden de concentración. La posibilidad de interferencias es reducida al mínimo. Los resultados son más precisos y la sensibilidad mejor. A pesar de que las técnicas destructivas son más laboriosas el tiempo de análisis es a menudo más corto que para los no destructivos debido a que el enfriamiento de la muestra es innecesario.

1.5.5.1. La Descomposición de las Muestras Ambientales

Los métodos de la descomposición de muestras para la determinación de mercurio deben tomar en cuenta la alta volatilidad del mercurio y sus compuestos. La descomposición debe ser llevada a cabo en sistemas cerrados.

La mayoría de las muestras ambientales son de materiales biológicos. Las técnicas de secar y mojar han sido usadas para la descomposición de las muestras biológicas. Los métodos son presentados en la Tabla 5. La descomposición por vía húmeda es usualmente llevada a cabo bajo el condensador de reflujo o en el aparato destilador (frecuentemente del tipo Bethge) con la ayuda de ácidos oxidantes o mezclas con o sin agentes oxidantes adicionales (H_2O_2 , $KMnO_4$, $K_2Cr_2O_7$) o catalizadores (V_2O_5). Según la Tabla 5 se prefieren las técnicas húmedas a las secas. HNO_3 y sus mezclas con H_2SO_4 y con una adición de H_2O_2 han sido usadas frecuente-

mente. Aunque las técnicas de combustión secas parecen más laboriosas y requieren mayor destreza ellas pueden mostrar ventajas sobre las húmedas si al mismo tiempo la separación de mercurio puede ser lograda.

Tabla 5 : Descomposición de materiales biológicos para determinación de mercurio

<u>Métodos</u>	<u>Medio de descomposición</u>
Digestión	HNO ₃ o HNO ₃ fumante
húmeda	HNO ₃ (o HNO ₃ fumante) + H ₂ SO ₄
	HNO ₃ + H ₂ O ₂
	H ₂ SO ₄ + H ₂ O ₂
	H ₂ SO ₄ + HClO ₄
	HNO ₃ + H ₂ SO ₄ + HClO ₄
	HNO ₃ + H ₂ SO ₄ + V ₂ O ₅
	Otras mezclas
Combustión	Tratamiento con cenizas en oxígeno a
seca	bajas temperaturas
	En aire, 1200°C
	En aire + oxígeno
	En aire seguido por combustión de productos gaseosos en O ₂ sobre gasa Pt
	Combustión Schöniger en O ₂ en presencia de Pt.

La descomposición de muestras ambientales además de los materiales biológicos es llevada a cabo con la ayuda de técnicas adecuadas. Por

ejemplo, la descomposición de rocas, sedimentos y tierras fue llevado a cabo en la presencia de Hf o por fusión alcalina. Persulfato de amonio fue usado para la descomposición de muestras de desagüe.

1.5.5.2. Separación Radioquímica de Mercurio (40)

Un método usado para la separación radioquímica de mercurio de los materiales ambientales asegura la separación de mercurio de los componentes de la matriz principal (^{24}Na , ^{42}K , ^{82}Br , ^{32}P) así como aquellos radioisótopos que pueden interferir radiométricamente (por ejemplo ^{198}Au , ^{75}Se). Obtener altos rendimientos de separación y factores altos de descontaminación es de importancia en vista del bajo contenido de mercurio en muestras ambientales.

El análisis destructivo de mercurio en muestras ambientales está generalmente basado en ^{197}Hg acompañado por $^{197\text{m}}\text{Hg}$. La separación del mercurio es usualmente llevada a cabo después de 2-3 días de la terminación de la irradiación de forma de minimizar exposición personal (alta actividad matriz). Una variedad de técnicas de separación han sido usadas.

1.5.5.2.1. Destilación y Volatilización (13, 16, 40)

La alta volatilidad de mercurio y sus compuestos (cloruros, bromuros, acetatos) ha sido usada para separación radioquímica de mercurio de varias muestras ambientales, particularmente los materiales biológicos. Los métodos de destilación y volatilización usados están resumidos en la Tabla 6.

Tabla 6 : Separación radioquímica de mercurio por técnica de destilación (volatilización)

Compuestos destilados de mercurio (volatilizado)	Destilación (volatilización)	
	precedido por	seguido por
Acetato		
Bromuro		intercambio aniónico intercambio isotópico en Hg intercambio isotópico en HgS
Bromuro - Cloruro		precipitación como HgS
Cloruro		electrodeposición precipitación como HgS
Hg metálico		absorción en papel filtro impregnado con Se extracción precipitación como HgS absorción en carbón
	precipitación como:	
	HgO	
	HgS	
	HgCl ₂	precipitación como complejo etilendiamino Cu (I)

La destilación del mercurio es precedida usualmente por otro método de manera de obtener una separación adicional de mercurio, para determinar la producción radioquímica o convertir el mercurio en una forma adecuada para la medición de la actividad. La destilación de los haluros de mercurio o acetatos es llevada a cabo directamente de la

digestión obtenida por descomposición húmeda de la muestra, mientras que la volatilización del mercurio metálico es usualmente acoplada a las técnicas de combustión seca o pirólisis de compuestos de mercurio precipitado en el curso de análisis.

Aunque la destilación es un paso eficiente para la separación, algunos elementos volátiles (por ejemplo halógenos, selenio) usualmente siguen al mercurio. Los halógenos siguen al mercurio en destilación de cloruros y bromuros, pero pueden ser apartados de la destilación mientras queda el mercurio. En la destilación del medio el halógeno en ácido acético puede ser destilado enteramente antes de la destilación de mercurio. El selenio sigue al mercurio en todos los métodos de destilación excepto el de la destilación del ácido acético.

En la destilación del cloruro así como algunos métodos de destilación de bromuro, el oro no es separado del mercurio.

La volatilización del mercurio metálico es la base de algunos métodos ingeniosos de separación radioquímica. En el método Kostø-Byrne el mercurio es volatilizado a 600 - 700°C y absorbido en papel impregnado de selenio. El selenio y halógenos son absorbidos en soda de cal y lana de plata respectivamente, antes de la absorción de mercurio. Un método simple ha sido desarrollado por Rook y colaboradores, después de la combustión seca de la muestra en un tubo de cuarzo el mercurio es volatilizado a 800°C y recolectando al final del tubo enfriado con nitrógeno líquido. El mercurio es luego enjuagado en el tubo con ácido nítrico.

La volatilización de mercurio también ha sido usada como un paso final de purificación.

1.5.5.2.2. Intercambio de Iones (7, 19, 22, 31, 40, 53)

La formación de complejos de mercurio cargados negativamente (haluros, tiocianatos, fosfatos) es la base de un número de procedimientos de intercambio aniónico para la separación de mercurio de los materiales ambientales irradiados.

Los métodos usados figuran en la Tabla 7. La mayoría de los procedimientos son esquemas de separación multielementales. En los métodos de mercurio que figuran en ella (la tabla), o uno u otro, es eluido de la resina con el eluente adecuado o retenido en la resina, el que es removido de la columna para la medición de actividad. La elución del mercurio es difícil y no es cuantitativa. Es entonces necesario determinar la separación de la producción. Por el otro lado la remoción de la resina (con mercurio absorbido) de la columna es inconveniente.

El intercambio iónico con procedimientos cromatográficos es una ventaja en análisis multielemental. La separación del mercurio por la técnica de grupo o con la ayuda del papel de intercambio iónico es más rápida pero el rendimiento de la separación es bajo y las interferencias de bromuro y en parte de sodio tienen lugar.

Una desventaja común de los métodos de intercambio aniónico es el hecho que el mercurio es seguido por el oro. La separación del mercurio del oro ha sido llevada a cabo antes que el intercambio aniónico usando un intercambiador de cation o la extracción por cromatografía.

La separación por intercambio iónico es frecuentemente precedida por otros pasos de separación, frecuentemente destilación (métodos De Samsahl's) o extracción. La precipitación es usada para aislar el mercurio de la elución.

Tabla 7 : Separación radioquímica de mercurio con intercambio - iónico

Medio	Resina	Hg		intercambio iónico	
		en eluato	en resina	precedido por	seguido por
HCl	Amberlite IRA-400	etilendiamino			precipitación de complejo de Cu-etil- endiamino - HgI ₂
	Dowex-1		+		
			+	destilación	
			+	extracción	
		0,15M tiocar- bamida + 0,1M HNO ₃		extracción	
					precipitación como HgS
	Dowex-2	HNO ₃	+	volatilización	
			+		
			+	destilación	
HCl - H ₂ SO ₄	Dowex-2		+	destilación	
HCl - HBr	Dowex-1		+	destilación	
HBr	Dowex-2		+	destilación	
	Dowex-1		+	intercambio catiónico	
HF	Dowex-1		+		
CNS	DEAE*	HCl			precipitación como Hg(0)
KI-I ₂	Dowex-2		+		
H ₃ PO ₄	Dowex-1		+	extracción cromatográ- fica	
CN	Amberlite		+		
aloa- lino	IRA-400**				

* DEAE - dietileamina etoxicelulosa

** papel de intercambio - iónico

1.5.5.2.3. Precipitación (12, 20)

No hay gran elección de los compuestos disponibles de mercurio soluble para la preparación de mercurio. El mercurio es comúnmente precipitado con sulfito o en la forma metálica. Ya que la precipitación carece de selectividad y la co-precipitación de muchos elementos es posible, es difícil de obtener una alta pureza radioquímica de lo precipitado. Por ello, la precipitación es usada en conexión con otras técnicas separadoras.

Los métodos de precipitación usados para la separación radioquímica de mercurio están indicados en la Tabla 8. La selectividad de la precipitación de mercurio puede ser mejorada por una selección adecuada del reactivo y condiciones, por ejemplo la precipitación (de HgS) con amidinotiourea en la presencia de agentes complejantes. La precipitación es un método conveniente para determinar la producción de la separación radioquímica.

Tabla 8 : Separación radioquímica de mercurio por precipitación

Compuesto precipitado	Precipitación	
	precedido por	seguido por
Complejo de Cobre-etilendiamino-yoduro mercurúrico	intercambio iónico	
Hg metálico	precipitación como Hg ₀	destilación
HgS		destilación electrodeposición
	intercambio iónico	
	precipitación como Hg	
	destilación	
Hg ₀	precipitación como HgS	

1.5.5.2.4. Extracción (18, 20, 40, 44, 54)

La extracción no ha sido frecuentemente usada para la separación de mercurio de las matrices ambientales irradiadas. Esto parece ser debido a la falta de selectividad de la asociación - ion de los sistemas de extracción (formados con cargas negativas de complejos de mercurio, por ejemplo halocomplejos), así como la inestabilidad de agentes complejantes (por ejemplo ditizona) o complejos de mercurio en medio de alta acidez y poder oxidante (muestras digestivas).

Las pocas técnicas de extracción usadas son presentadas en la Tabla 9. La extracción de complejos de bromuro de mercurio con bencina y la extracción con triisooctilamina carece de selectividad y requiere pasos de separación adicional para obtener suficiente pureza radioquímica.

La selectividad de la extracción puede ser mejorada usando sumas subestequiométricas de reactivo en la presencia de agentes complejantes. Estos métodos sin embargo no pueden ser aplicados en medios de fuerte acidez y poder oxidante.

Un método que permite la extracción de mercurio de soluciones con alto contenido de acidez y oxidantes es la extracción con tionalida.

Una común desventaja de todos los métodos de extracción es la coextracción de bromuro (que pasa dentro del solvente). Esta interferencia puede ser reducida con una extracción preliminar con solvente puro. Otra común desventaja es la extracción de oro. En la extracción de tionalida esta interferencia es fácilmente eliminada tomando ventaja de la diferencia de solubilidad del mercurio y complejos de oro en cloroformo.

Tabla 9 : Separación radioquímica de mercurio por extracción o intercambio - isotópico

	Método <u>(sistema)</u>	Precedido <u>por</u>	Seguido <u>por</u>
Extracción	con benceno a partir de 10M H ₂ SO ₄ - < 0,01M HBr		retroextracción a HCl e intercam- bio iónico
	con TIOA en xileno a partir del HCl	volatilización	retroextracción de 10N HNO ₃
	subestequiométrico, con Bind- schedler Green en 1,2 -diclo- roetano a partir de medio de bromuro, pH 2, con tionalida de (1+3) HNO ₃ o HNO ₃ /H ₂ SO ₄ con ditizona en CHCl ₃ o CCl ₄		retroextracción de HCl/KBr
	subestequiométrico con di- tizone a partir de 2M H ₂ SO ₄		
Extracción con cobre-dibencil-ditiocar- cromato- gráfica	bamato en CHCl ₃ en cromato- sorb, a partir de 0,1M HNO ₃ o 0,5 1M H ₂ SO ₄		
Intercam- bio isotó- pico	en Hg metálico en HgS	destilación destilación	

1.5.5.2.5. Intercambio Isotópico

El intercambio heterogéneo de isótopos entre Hg(II) en la muestra de solución y una gota de mercurio metálico ha sido ventajosamente usado para la separación de mercurio de las muestras ambientales. El método es simple y rápido y su rendimiento radioquímico es alta. Sin embargo, esta técnica sufre de varias desventajas. El intercambio de isótopos no puede ser llevado a cabo en los medios de fuerte acidez. El mercurio no es separado del oro. La autoabsorción de los rayos gama suaves de ^{197}Hg tiene lugar en la gota de mercurio (la autoabsorción puede ser reducida por disolución del mercurio antes de la medición de actividad). Otra desventaja del método discutido es el uso de grandes cantidades de mercurio metálico volátil en un laboratorio comprometido en el análisis de sub-microgramos de cantidades de mercurio.

El intercambio de isótopos de mercurio en HgS depositado en celulosa también ha sido usado después de una separación preliminar de mercurio por destilación.

Las técnicas de intercambio de isótopos usadas en análisis ambientales figuran en la Tabla 9.

1.5.5.2.6. Deposición ⁽²⁵⁾

Los métodos usados para separación de mercurio de las muestras ambientales comprende también la deposición o electrodeposición. El mercurio fue depositado en polvo de cobre, tamizado de cobre o amalgamado de hojas de Cu. El rendimiento de la deposición fue aumentado por recirculación de la solución muestra. La electrodeposición en hojas de metal (cátodo) ha sido usada como un paso final de la separación de mercurio después de la destilación o precipitación. El mercurio depositado en una hoja es una forma conveniente para la medición de actividad. Pesando las hojas de la separación radioquímica puede ser fácilmente

determinada la producción. Sin embargo, la electrodeposición toma tiempo, si va a ser obtenido un alto rendimiento. Las técnicas de deposición o electrodeposición no permiten la separación de mercurio del oro.

1.5.5.2.7. Determinación del Rendimiento de la Separación Radioquímica

Es una ventaja del método de activación que la separación del elemento a ser determinado no necesita ser cuantitativa dado que el rendimiento de la separación puede determinarse fácilmente aplicando una técnica del portador inactivo. Esta virtud es de gran valor cuando se requiere una alta pureza radioquímica y muchos pasos de separación y purificación son necesarios. Sin embargo, con la aparición del espectrómetro de alta resolución y ninguna necesidad de alta pureza radioquímica la separación es más frecuentemente llevada a cabo cuantitativamente. Este también es el caso del análisis de mercurio. La mayoría de los procedimientos arriba discutidos son cuantitativos. En aquellos que no están determinados, debido a que la producción radioquímica no es cuantitativa, son llevados a cabo los procedimientos por varios métodos: por irradiación, gravimétricamente después de la precipitación, destilación de mercurio metálico o electrodeposición con la ayuda de un rastreador radioactivo (^{203}Hg) por medio de fotometría de flama, absorción atómica, volumetría y colorimetría. El rendimiento radioquímico usualmente está fluctuando de 50-90%.

1.5.5.2.8. Bajo* Límite de Determinación, Precisión y Exactitud de Técnicas Destructivas de Determinación de Mercurio.

Ha sido mencionado antes que el bajo límite de determinación de mercurio por el AAN no destructivo es altamente dependiente del tipo de la matriz y de la presencia de los radionuclidos interferentes. Este no es el caso en los métodos destructivos ya que los componentes de matriz y

* el término " bajo " se utiliza para decir que es detectable a niveles pequeños de concentración.

elementos interferentes son separados del mercurio antes del ensayo radiométrico. Sin embargo, muchos procedimientos de separación no permiten separar algunos radionucleidos interferentes que entonces afectan el bajo límite de determinación (por ejemplo ^{198}Au , ^{82}Br).

Para matrices biológicas el bajo límite de determinación está fluctuando de 0,1 - 1 ng Hg dependiendo del tipo de muestra, siendo su peso alrededor de 0,3 g.

Para aguas de bajo límite de determinación depende del tamaño de la muestra irradiado que varía de alrededor de diez a varios cientos de mililitros y en la técnica de preconcentración usada (si ha sido usada alguna). Fué determinada una cantidad tan pequeña como 1 ng/L usando preconcentración de mercurio en carbón.

Alguna información detallada en el bajo límite de la determinación de mercurio por AAN destructivo está dada en la Tabla 10.

Tabla 10 : Bajo Límite de Determinación de Mercurio (L_{Hg}) en AAN destructivo

<u>Tipo de muestra</u>	<u>L_{Hg}, ng</u>	<u>L_{Hg}, ppb</u>
Aguas	0,1 - 1	0,001
	0,01 - 0,1	
	4	0,1 - 1
Materiales biológicos	0,1	0,1
	0,2 - 0,5	1 - 5
		10
Suelos		
Sedimentos		
Rocas	30	
Aire		0,5 ng/cm ³

La precisión de determinación de mercurio (desviación estándar) por AAN con separación radioquímica (destrutivo) depende del nivel de mercurio en la muestra analizada y fluctúa entre varios porcentajes para concentraciones sobre 0,1 ppm a 10-15%, en su mayor parte por baja concentración. Cerca al límite bajo de determinación la precisión puede ser tan pobre como de 50 - 100%

La determinación de mercurio al nivel de ppm puede estar sujeta a errores debido a la volatilidad del mercurio y sus compuestos, de la contaminación de los reactivos o interferencias. El AAN debe ser capaz de proporcionar resultados precisos de la determinación de mercurio (si se toman precauciones para evitar pérdidas de mercurio) debido a que está libre de interferencias nucleares (con matrices ambientales).

La precisión en los análisis de mercurio puede ser evaluada en base a los análisis de estándares adecuados. Esto se ha hecho frecuentemente para material vegetal y tejido animal usando la col (crusífera) de Bowen o el hígado bovino NBS, respectivamente. La precisión de la determinación del mercurio ha sido evaluada para estándares del tipo vegetal y animal.

En la mayoría de casos la precisión estimada fué mejor que el 10%.

Esta información sin embargo discrepa con los resultados de la intercomparación del IAEA llevada a cabo en numerosos materiales de interés ambiental. La intercomparación ha señalado que la confiabilidad de la determinación de mercurio al nivel sub-ppm deja mucho que desear. Esto se puede ver en la Tabla 11 que contiene el sumario de los resultados de la determinación de mercurio obtenido en la intercomparación de muestras ambientales de interés. Según la Tabla 11 se observa que el contenido de mercurio estimados en diferentes muestras por los laboratorios participantes anteriormente son mejores que los estimados últimamente que incluyen los promedios de los porcentajes. Las desviaciones estándares son del orden de 50% usuales, tal como se muestra en la tabla mencionada.

Sin embargo, es necesario aclarar que la precisión de los resultados obtenidos por el único método competitivo, de absorción atómica, no ha sido mejor.

Tabla 11 : Precisión de determinación de mercurio en materiales biológicos

Tipo de muestra	Medida total de todos los promedios hallados por los laboratorios anteriormente <u>centados en ppm</u>	Rango de estimados de laboratorios ($\pm\%$)	Rango de desviaciones halladas últimamente($\pm\%$)
Arina de maiz	10,3 \pm 6,6	10 - 15	15,7 - 266
		20 - 50	88 - 436
Arina de trigo	4,6 \pm 22	7 - 20	33 - 1140
		50 -100	3,1 - 780
Sangre de animal	13,0 \pm 6,0	10 - 20	3,8 277
		20 - 50	1,5 - 208
Solubles de pe- ces	62,6 \pm 23,1	10 - 20	3,8 66
		20 -100	30,6 - 32,9
Leche	4,5 \pm 1,1	15 - 50	6,5 - 434
Aserrín	41,5 \pm 10,1	10 - 15	28,4 541
		50 - 80	1,2 - 18,1
Celulosa	74,5 \pm 38,7	5 - 15	41,5 - 92,0
		50	38,2

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. INSTRUMENTOS Y REACTIVOS

2.1.1. INSTRUMENTOS

Modulo de fuente poder, Canberra - modelo 1000

Fuente de alto voltaje, Canberra - modelo 3105

Detector Ge hiperpuro con ventana de Be, tipo planar, Intertechnique (IN), Detector: EGPXR 800 Nº 6204, Cristal: SH 9030 A Nº 872, Tensión: -1500V (Negative) ⁽¹⁸⁾

Preamplificador, Intertechnique (IN), Instrumentation Nucléaire Enertec, Type: ESC 761 R Nº 342

Amplificador espectroscópico, Canberra - modelo 2020

Amplificador de investigación, Ortec - 450

Analizador multicanal, Canberra - series 85 ⁽²⁶⁾, modelo 8505

Analizador multicanal, Canberra - series 35 Plus, modelo 3502

Computadora Professional 350, digital, modelo PC 350 - D2

Impresora Digital, LA 50 - RB

Osciloscopio, Tektronik - 455

Medidor de pH, Orion Research Incorporated - EA 920

Balanza para pesar con 5 decimales, August Sauter GmbH D - 7470 Albstadt 1 - Ebingen.

Estufa, GFL - 7005

Lámpara infraroja, OSRAM (Theratherm) - 250 W (220 - 230 V), Germany (q A6)

Selladora de bolsas, Vacupack, Krups

Reactor Nuclear de Potencia -10 (RP-10), I.P.E.N., Perú

Selladora de " canes " de aluminio, COARTEC, Tecnología Nuclear, Ind. Argentina

Pulidora de "canes" de aluminio, Induction Motor, HWANG GUAN,
Sheng Guang Electric & Machine Works, Taiwan - China

Equipo de soldar ampollas de cuarzo

2.1.2 REACTIVOS

Mercurio metálico, bidestilado, Multiquímica S.A.

Acido nítrico concentrado, Merck

Hidróxido de amonio concentrado (amoníaco), Merck

Tioacetamida (para análisis), Merck

Celulosa (Cellulose powder from spruce for column chromatography),
BioChemika, Fluka

Acido etilendiaminotetracético (EDTA - Titriplex III para análisis),
Merck

Zinc metálico (para análisis), Merck

Urotropina

Indicador anaranjado de xilenol

Etolol (alcohol puro), Laboratorio INPER S.A. (prod. Peruano)

Extram (lavado radiactivo), Merck

Agua destilada y bidestilada, IPEN

Buffer 4

Buffer 7

Acido clorhídrico concentrado, Baker

2.2. Preparación de Ampollas de Cuarzo Conteniendo Patrón de Mercurio y Muestras*

2.2.1. Preparación de Patrón de Mercurio ⁽³⁶⁾

En un erlenmeyer con tapa se pesan 100 mg de Hg metálico. Se disuelven en 7,2 mL de HNO₃ concentrado y se llevan a una fiola de 100 mL donde se enrrasa con agua bidestilada. De esta manera se tiene una solución patrón de 1000 ppm de Hg, con una acidez de 1,008 M.

Luego se toma 1 mL de esta solución y se lleva a una fiola de 50 mL y se enrrasa con agua bidestilada. Así se tiene una solución patrón de 20 ppm de Hg, con una acidez de 0,02016 M. De esta solución patrón final se toman 50 μ L (con una micropipeta) que corresponden a 1 μ g de Hg para cada ampolla patrón que se prepara.

2.2.2. Preparación de Solución de Hidróxido de Amonio 0,1 M

Se toman 5 mL de NH₃ concentrado y se llevan hasta 75 mL con agua bidestilada, obteniéndose una solución de NH₃ 1 M. De esta solución se toman 4 mL y se diluyen hasta 40 mL con agua bidestilada, y se tiene una solución de NH₃ 0,1 M. De esta solución final se toman 20 μ L (con una micropipeta), para tener el doble de la cantidad necesaria para neutralizar cada ampolla patrón que se prepara.

2.2.3. Preparación de Solución de Tioacetamida 1,3 M

Se pesan 10 g (133,1 mmoles) de CH₃CSNH₂ y se llevan a una fiola de 100 mL donde se enrrasa con agua bidestilada. De esta solución se toman 10 μ L (con una micropipeta), lo cual equivale a 1 mg de tioacetamida (CH₃CSNH₂), para cada ampolla patrón que se prepara.

*Todo el trabajo se realiza en un laboratorio ultralimpio y en condiciones ultralimpias (con guantes, pinzas, etc.).

2.2.4. Preparación de Ampollas de Cuarzo conteniendo el Patrón de Hg ⁽⁴⁶⁾

Con las soluciones preparadas anteriormente se procede a la preparación de las ampollas de cuarzo ultrapuro (previamente marcadas y limpiadas) conteniendo el patrón de Hg.

Primero se introduce la celulosa, con ayuda de un embudo, hasta aprox. $\frac{1}{3}$ de la capacidad de la ampolla de cuarzo ultrapuro. Luego se le agrega 50 μL de la solución patrón de 20 ppm de Hg. Seguidamente se le agrega 20 μL de NH_3 0,1 M. Y por último se le agrega 10 μL de la solución de tioacetamida 1,331 M. Una vez que todo se introduce en la ampolla se limpian las paredes con 100 μL de agua bidestilada y luego se deja secar bajo lámpara infrarroja (para que seque a temperatura moderada) hasta el día siguiente. Una vez secas, se observa un precipitado negro en la celulosa debido al HgS que se forma.

En seguida se congela en N_2 líquido, para sellar en estas condiciones, cuidando que no hayan microhuecos.

2.2.5. Comprobación de la Concentración de la Solución de 1000 ppm de Hg ^(6, 32)

Para comprobar la concentración de la solución patrón de 1000 ppm de Hg se realizan varias valoraciones, todas siguiendo el mismo procedimiento y todas por duplicado.

Se valora con HNO_3 1 M a una solución de EDTA ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), para descartar que la solución de EDTA está exenta de úrea.

Luego se valora el EDTA con una solución patrón de Zn, la cual se prepara igual que la solución patrón de Hg. Primero se pesa el Zn exactamente, se disuelve en 7,2 mL de HNO_3 concentrado y se lleva luego a una fiola de 100 mL enrasándose con agua bidestilada. Luego de esta

valoración se sabe que la concentración de la solución de EDTA es 0,02138M.

Una vez que se sabe la concentración de la solución de EDTA se realiza la valoración de la solución patrón de 1000 ppm de Hg. Pero antes de realizar la valoración de la solución patrón, primero se debe comprobar que todo el Hg está en forma divalente, para esto se toma una pequeña cantidad de la solución patrón y se agrega unas gotas de HCl concentrado; si hay sal de mercurio (I), precipitará cloruro mercurioso insoluble ⁽²⁹⁾ Luego de esta prueba se observa que todo el Hg está en forma divalente, por lo que se procede a la valoración.

Para realizar la valoración se toma una alícuota de 20 mL de la solución patrón y se deposita en un vaso, se le agrega agua destilada y luego se lleva a pH = 5 aprox., con urotropina. Después se le añade 0,1g de indicador anaranjado de xilenol y se valora con solución de EDTA 0,02138 M hasta viraje de violeta a amarillo.

2.2.6. Preparación de Muestras

Se pesan todas las ampollas de cuarzo ultrapuro (previamente marcadas y limpiadas) y luego se introducen las muestras que se encuentran en forma de polvo, con ayuda de embudos, cuidando que no quede muestra en las paredes de la ampolla. Luego de haber llenado hasta aprox. 1/3 de la capacidad de la ampolla (aprox. 100 mg) se pesan las ampollas nuevamente para saber por diferencia de pesada la cantidad de muestra introducida en cada ampolla de cuarzo ⁽²⁰⁾, y en seguida son selladas, cuidando siempre que no queden microhuecos.

Para la realización de este trabajo se cuenta con cuatro muestras diferentes y cada una se realiza por cuadruplicado. Las muestras uti-

lizadas son las siguientes:

- pulpa de pescado homogenizado
- riñón de caballo
- " copepodo " homogenizado (otra muestra de pescado)
- leche en polvo

Todas las muestras utilizadas son materiales de referencia .

2.2.7. Preparación de Patrón de Selenio ⁽³⁶⁾

Se tiene una solución patrón de 1000 ppm de Se, se toman 400 μL de esta solución patrón de Se y se llevan a una fiola de 10 mL donde es enrrasada con agua bidestilada. De esta solución patrón final de Se se toman 250 μL (con una micropipeta) que corresponden a 10 μg de Se para cada ampolla patrón que se prepara.

2.2.8. Preparación de Ampollas de Cuarzo conteniendo el Patrón de Se ⁽⁴⁶⁾

Se debe determinar el pH de la solución de Se, para poder llevar hasta una solución básica que permita la precipitación posterior como SeS , de forma similar que el patrón de mercurio. En seguida se preparan las ampollas de cuarzo ultrapuro (previamente marcadas y limpiadas) conteniendo el patrón de Se, introduciendo luego la celulosa, con ayuda de un embudo, hasta aprox. $\frac{1}{3}$ de la capacidad de la ampolla de cuarzo ultrapuro. Luego se agrega 250 μL de la solución patrón de 40 ppm de Se, después se adiciona 100 μL de NH_3 0,1 M (que es la cantidad con la que se duplica la basicidad). Y por último se agrega 10 μL de la solución de tioacetamida 1,331 M, siendo las paredes de la ampolla lavadas con 100 μL de agua bi-destilada y luego se deja secar bajo lámpara infrarroja (secado moderado)

hasta el día siguiente, obteniéndose un precipitado negro en la celulosa debido al SeS formado.

Se les congela con N₂ líquido y finalmente se les sella en estas condiciones, cuidando que no hayan microhuecos.

2.3. Propiedades Físicas del Patrón de Mercurio y de las Muestras

El Hg metálico es sumamente volátil, por lo que se precipita en los patrones como HgS, el cual es mucho menos volátil.

Tanto la pulpa de pescado homogenizado como el copepodo homogenizado tiene color marrón - anaranjado, debiendo su color principalmente a los altos contenidos de fierro; a temperaturas más elevadas pueden volatilizarse algunos aceites.

El riñón de caballo así como la leche en polvo tienen color blanco - crema.

Todas las muestras son higroscópicas y estables a temperatura ambiente, razón por la cual se realizan mediciones de humedad en cada muestra obteniéndose los siguientes resultados:

<u>Muestra</u>	<u>% de humedad</u>
pulpa de pescado homogenizado	7,44455
riñón de caballo	11,69844
copepodo homogenizado	12,00918
leche en polvo	7,86415

La pulpa de pescado homogenizado y el copepodo homogenizado se secan a 30°C durante 1 hora, mientras que el riñón de caballo y la leche en polvo se secan a 100°C durante 1 hora (hasta peso constante) ⁽³⁹⁾, en la literatura se recomienda dar los resultados sobre la base de peso seco ⁽²⁶⁾.

Con estos resultados se obtiene el peso real de cada muestra.

2.4. Lavado de Material Utilizado durante el Trabajo antes de la Irradiación

Las ampollas de cuarzo ultrapuro así como los embudos utilizados son limpiados dejándolos en remojo con HNO_3 1:1 durante 3 a 5 días y luego son enjuagados con agua bidestilada hasta pH neutro, para después ser secadas en estufa y en lámpara infrarroja respectivamente (54).

Las fioles, vasos y demás materiales de vidrio utilizados son lavados y luego remojados en Extram 1:1 durante un día, luego se les enjuaga con agua destilada. Por último se dejan remojando en HNO_3 1:1 durante 3 días, se enjuagan con agua destilada y con agua bidestilada. El secado se realiza en lámpara infrarroja o en estufa dependiendo si el material está calibrado o no.

2.5. Determinación de Ausencia de Interferencias en Ampollas de Cuarzo en el Fotopico en 279 KeV de ^{203}Hg

Para esto se irradian tres ampollas de cuarzo ultrapuro previamente lavadas en las mismas condiciones, como se realiza en el trabajo. Estas ampollas se mandan en un mismo "can" de aluminio, las ampollas se encuentran vacías y selladas. Luego de irradiarse se limpian con HNO_3 1:1 y luego con agua destilada. Se introducen en bolsitas plásticas. Se realizan contajes a una semana, a dos semanas, a tres semanas y al mes.

2.6. Preparación de las Ampollas de Cuarzo conteniendo el Patrón de Hg y las Muestras para su Irradiación de " Canes " (Cápsulas) de Aluminio (12, 26, 48)

Una vez selladas las ampollas de cuarzo se limpian con un algodón con alcohol utilizando pinzas. Luego que las ampollas se encuentran bien limpias por fuera se combinan de tal forma que queden dos muestras con un patrón para cada " can " de aluminio. Estas ampollas se envuelven en un papel de aluminio de tal forma que las proteja de golpes. Luego se introducen en los " canes " de aluminio que se encuentran pulidos previamente. Estos son sellados a presión y luego son sometidos a pruebas de estanqueidad con N_2 líquido para comprobar que están bien sellados.

Los " canes " preparados de esta forma son irradiados durante 8 h⁽³¹⁾, a una potencia de 7 MW y un flujo de 5×10^{13} neutrones. $cm^{-2} \cdot seg^{-1}$. (7, 9, 20, 47, 53, 54)

2.7. Recepción de " Canes " de Aluminio y Tratamiento de Ampollas de Cuarzo Ultrapuro Previo a su Contaje

Una vez que los " canes " de aluminio son irradiados, se abren, utilizando blindajes de plomo como protección y luego se sacan las ampollas, las cuales son lavadas con HNO_3 1:1 (se dejan en remojo durante 1 hora aprox.) y luego en agua destilada⁽⁵⁴⁾, en seguida se secan y son transferidas a bolsitas plásticas que son selladas en una selladora de plásticos, de esta forma se encuentran listas para ser contadas.

2.8. Contaje de Ampollas de Cuarzo Ultrapuro conteniendo el Patrón de Mercurio y las Muestras

Se deja decaer el contenido de las ampollas de cuarzo durante 30 días (hasta 60 días) (9, 47, 48) se realiza el contaje de cada ampolla que contienen el patrón de mercurio y las muestras, manteniendo las mismas condiciones de contaje en las ampollas correspondientes a un mismo "can" de aluminio.

2.8.1. Parámetros de Contaje de Ampollas de Cuarzo Ultrapuro conteniendo el Patrón de Mercurio y las Muestras

Los contajes son realizados en dos amplificadores diferentes por lo que se establecerán las condiciones de trabajo de ambos equipos. Todas las ampollas de cuarzo ultrapuro, tanto las que contienen las muestras como las que contienen los patrones, son contadas con una separación del detector planar de germanio ultrapuro mediante el uso de una mica de aprox. 0,5 cm. de espesor. Para mantener la misma geometría en todos los contajes se cuida que todas las muestras estén justo en el centro de la ventana de berilio del detector.

Se enciende el sistema: el módulo de fuente de poder y la fuente de alto voltaje. El detector planar de germanio ultrapuro debe tener una tensión negativa de 1500 Voltios. El amplificador se coloca en las condiciones adecuadas.

El amplificador Canberra, modelo 2020 debe tener las siguientes especificaciones:

- Ganancia gruesa: 100
- Ganancia fina: 7,5
- Tiempo de conformación de pulso: 1 μ seg
- Restaurador:
 - a) Razón: hi
 - b) Modo: sym

- Controlador de línea de base: auto
- Compensador de pulso (PUR): off
- Polaridad de entrada: positiva

El amplificador Ortec, modelo 450 debe tener las siguientes especificaciones:

- Ganancia gruesa: 100
- Ganancia fina: 2,94
- Tiempo de conformación de pulso (μ seg);
 - Integrada: 1,5
 - Diferenciada: 1,5
- Modo de entrada : positiva, normal
- Salida unipolar; rango: positiva, 10 Voltios
- Restaurador de línea de base: salida
- Entrada: normal
- Salida: unipolar

Luego se enciende el multicanal. Para calibrar el multicanal se utilizan fuentes de ^{57}Co (fotopico a 122 KeV) y ^{137}Cs (fotopico a 661,6 KeV).

En estas condiciones el fotopico de ^{203}Hg en 279 KeV queda en el centro del espectro en la pantalla del multicanal y su resolución será lo mejor posible (FWHM = 1,0 - 1,3 KeV).

El tiempo muerto en el equipo no debe ser mayor de 2%. Si se obtiene un tiempo muerto mayor en el equipo al contar la ampolla de cuarzo, entonces se aleja la ampolla hasta llegar a un tiempo muerto menor o igual al establecido, luego se toma la distancia de la ampolla con respecto al detector y se colocan las otras dos ampollas correspondientes al mismo "can" de Al a la misma distancia para mantener las mismas condiciones. El tiempo de conteo para calibración es de 1000 seg. El tiempo de conteo de los patrones es de 3600 seg y el tiempo de conteo de las muestras es de

aproximadamente 21600 seg. este tiempo puede ser mayor o menor, dependiendo de si la actividad de la muestra es mayor o menor.⁽⁹⁾

2.8.2. Evaluación de Fotopicos ⁽⁸⁾

La evaluación de los fotopicos se hace mediante el metodo del área total el cual considera como área neta del fotopico, al número de cuentas en la región que está sobre la línea base o fondo. La región esta definida aquí como el fotopico más los puntos finales especificados. La línea de base está determinada como el promedio de "k" puntos finales en cada lado del fotopico a determinar. Después se traza una línea recta entre estos valores promedios para obtener el fondo.

La fórmula matemática del método del área total es la siguiente:

$$\text{Area} = \text{Integral} - [(N/2) \cdot (B_1 + B_2)]$$

donde:

Integral es el número total de cuentas en la región (no es la integral del fotopico).

N es el número de canales que hay en el fotopico, desde el inicial hasta el final (f - i + 1).

i el número del canal inicial del fotopico.

f el número del canal final del fotopico, a la izquierda del mismo.

k número de puntos finales

x_i cuentas en el canal inicial

x_f cuentas en el canal final

$$B_1 = \left(\sum_{a=i}^{i+k-1} x_a \right) / k \quad \text{valor estimado de línea base en la izquierda.}$$

$$B_2 = \left(\sum_{a=f-k+1}^f x_a \right) / k \quad \text{valor estimado de línea de base en la derecha.}$$

$$\text{Fondo} = (N/2) \cdot (B_1 + B_2)$$

$$\text{Integral} = \sum_{a=i}^f X_a$$

Area = Integral - Fondo

2.8.3. Suavizado de Fotopico ⁽⁸⁾

La fórmula utilizada para el suavizado de 5 puntos que es el que se utiliza en el trabajo es :

$$Y_i = \frac{Y_{i-2} + 4 Y_{i-1} + 6 Y_i + 4 Y_{i+1} + Y_{i+2}}{16}$$

2.9. Tratamiento de Datos

-Tiempo de Decaimiento: éste se calcula a partir de la primera muestra que se mide, pues como se trabaja por el método de comparación, entonces la primera ampolla que se cuenta de cada " can " de aluminio se toma con un tiempo de decaimiento de 0 seg y a partir de ésta es que se toma el tiempo de decaimiento de las otras dos ampollas que se irradian en el mismo " can " de aluminio, en seg.

2.9.1. Cálculo de Actividades de Patrones y Muestras, y Concentraciones de Muestras en ppm

Se mide cada ampolla de cuarzo ultrapuro conteniendo los patrones y las muestras, se toman los datos luego del suavizado de pico, para esta toma de datos se consideran dos picos, el de Hg en 279 KeV y el de Se en 264 KeV, pues se tiene que hacer una corrección por interferencia de Se. Se toman las áreas correspondientes a cada pico y luego se procede a la corrección.

2.9.1.1. Corrección del Área por Contribución de Selenio (18, 19, 25)

Para la corrección del área por contribución de Se se irradian 2 "canes" conteniendo patrón de Se en las mismas condiciones como se trabaja con el Hg, luego de un mes o mes y medio, se cuentan las ampollas de cuarzo ultrapuro conteniendo los patrones de Se en las mismas condiciones como se cuentan las muestras y patrones de Hg. Tomando luego del conteo las áreas de los fotopicos de ^{75}Se en 264 KeV y en 280 KeV. Luego de hacer las correcciones por tiempo de decaimiento y tiempo de conteo, se realiza una regla de tres simple entre ambas razones de conteo partiendo de que el fotopico a 264 KeV tiene una intensidad de 100, de esta forma se encuentra la intensidad del fotopico en 280KeV.

Fotopico de ^{75}Se en 264 KeV	100
Fotopico de ^{75}Se en 280 KeV	

$$x = \frac{\text{Fotopico de } ^{75}\text{Se en 280 KeV} \cdot 100}{\text{Fotopico de } ^{75}\text{Se en 264 KeV}}$$

Luego de obtener esta información, se promedian los resultados y se obtiene la respectiva desviación estándar. Luego de este procedimiento se encuentra que la intensidad del fotopico en 280 KeV es de 39,23 con relación al fotopico en 264 KeV de una intensidad de 100, en alguna literatura aparece como 0,4 la correlación ⁽²⁵⁾. Esta contribución del fotopico de ^{75}Se en 280 KeV es restada del fotopico de ^{203}Hg en 279 KeV, para de esta forma obtener el verdadero valor del fotopico de ^{203}Hg . Es decir:

$$\text{Area Neta de } ^{203}\text{Hg}_{279 \text{ KeV}} = \text{Area}_{279 \text{ KeV}} - 0,3923 \text{ Area}_{264 \text{ KeV}}$$

2.9.1.2. Cálculo de la Actividad Medida (24, 50)

Una vez que se resta la contribución del fotopico de ^{75}Se al fotopico de ^{203}Hg en 279 KeV, se divide este nuevo valor de área entre el tiempo de contaje de la muestra y así se obtiene la actividad medida (A_0) (razón de contaje) al tiempo de contaje (t_c)

$$A_0 \text{ (cps)} = \frac{\text{Área de fotopico de } ^{203}\text{Hg en 279 KeV} \text{ (Nº de cuentas)}}{t_c \text{ (seg)}}$$

2.9.1.3. Cálculo de Actividad Corregida por Tiempo de Decaimiento y Tiempo de Contaje (24, 50)

Luego de que se tiene la actividad medida en cps (cuentas por segundo) se debe de hacer una corrección por tiempo de contaje, pues las muestras se cuentan a diferentes tiempos. No se corrige por tiempo muerto pues éste es 0 % en la mayoría de las ocasiones y si en los casos en que la muestra tiene tiempo muerto éste es de 1 % o en el peor de los casos de 2%, motivo por el cual no se hace esta corrección, pues el tiempo muerto no es significativo. Luego también se hace una corrección por tiempo de decaimiento. Para realizar todas las correcciones de la actividad (A) de la muestra se utiliza la siguiente fórmula:

$$A = \frac{A_0 \cdot \lambda \cdot e^{\lambda \cdot t_d} \cdot t_c}{(1 - e^{-\lambda \cdot t_c})}$$

De la misma manera se realiza la corrección para las muestras (A_m) y para el patrón (A_p).

2.9.1.4. Cálculo de Concentraciones en ppm ^(24, 50)

Para el cálculo de concentraciones se tienen ya calculados los valores de la actividad corregida de la muestra (A_m) y del patrón (A_p), y se tiene la cantidad exacta de patrón que hay en cada ampolla de cuarzo ultrapuro (peso de patrón: W_p). También se tiene el peso exacto de la muestra (W_m) que se corrige por su % de humedad, previamente calculado. Teniendo toda esta información se pasa al cálculo de concentración de Hg en la muestra en ppm [X_{ppm}]

$$[X_{ppm}] = \frac{A_m / A_p \cdot W_p (\mu g)}{W_m (g)}$$

2.9.1.5. Cálculo de Concentración Promedio en ppm ^(33, 35)

Una vez que se tienen las concentraciones de Hg en cada muestra en ppm se suman todos los valores de concentraciones de Hg obtenidos para una misma muestra y se divide entre el total de valores obtenidos para la misma muestra. De esta forma se obtiene el valor promedio de contenido de Hg en cada muestra [\bar{X}_{ppm}] .

$$[\bar{X}_{ppm}] = \frac{\sum_{i=1}^n [X_{i ppm}]}{n}$$

2.9.2 Cálculo de Desviaciones Estándar (33, 35)

En esta sección se realizan los cálculos de las desviaciones estándares de todos los resultados obtenidos en el trabajo.

2.9.2.1. Desviación Estándar en Cada "Can" de Aluminio

Para realizar el cálculo de la desviación estándar en cada "can" de aluminio que se irradia, se enviaron a irradiación, bajo las mismas condiciones, dos "canes" de aluminio, cada uno de ellos con tres ampollas de cuarzo ultrapuro conteniendo el patrón de Hg. Luego de irradiar y contar las ampollas conteniendo el patrón de Hg en las mismas condiciones como se realiza todo el trabajo se procede a hacer las correcciones antes mencionadas. Es decir, primero se obtiene la actividad medida y luego la actividad corregida. No se realiza la corrección por contribución de ^{75}Se en el fotopico de ^{203}Hg en 279 KeV, pues como son patrones de Hg puro no se tiene selenio. Una vez que se tiene la actividad corregida de todos los patrones se procede a sumar los resultados de actividades corregidas en cada "can" y dividirlos entre el número de actividades corregidas sumadas (en este caso son tres), de esta forma se tiene la actividad corregida promedio. Se trabaja con cada "can" de aluminio independientemente, porque a pesar de que se irradian juntos, ambos "canes" no reciben el mismo flujo neutrónico. Luego, para calcular la desviación estándar en cada "can" se utiliza la siguiente fórmula:

$$\sigma = \left[\sum_{i=1}^n \frac{(A_i - \bar{A})^2}{n-1} \right]^{1/2}$$

Con el valor hallado se calcula el porcentaje que representa esta desviación estándar calculada con respecto a la actividad corregida promedio. Una vez obtenido este porcentaje de desviación estándar en cada

" can " de aluminio se promedian ambos porcentajes calculados obteniéndose el porcentaje promedio de desviación estándar en cada " can " de aluminio irradiado y este valor es de 6,3 %

Se realiza el mismo procedimiento para los dos " canes " conteniendo los patrones de Se obteniéndose el porcentaje promedio de desviación estándar en cada " can " de aluminio irradiado y este valor es de 3,2 %

2.9.2.2. Desviación Estándar en el Area Neta

De igual forma que con el área neta, aquí también se trabaja con el % de error que arroja el equipo ⁽⁸⁾ Este % de error o estadística de conteo para la región se calcula, con respecto a la desviación estadística (σ), de la siguiente manera.

$$\% \text{ Error} = m \cdot \sigma / \text{Area}$$

donde m es el nivel de confianza deseado en unidades sigma, este valor se considera como 1,65 sigma (90% de nivel de confianza estadística) El valor de k es el valor establecido en la sección de área neta para promediar el fondo que es igual a 4 De esta fórmula se despeja la desviación estándar y así se tienen las desviaciones estándar para el fotopico en 264 KeV y el fotopico en 279 KeV. La desviación estándar se calcula por el equipo de la siguiente manera:

$$\sigma = [\text{Integral} + (N/2k) \cdot N/2 \cdot (B_1 + B_2)]^{1/2}$$

2.9.2.3. Desviación Estándar en Área Corregida por Contribución de Selenio

Una vez que se tienen las desviaciones estándares de las áreas en los fotopicos en 264 KeV y en 279 KeV se calcula la desviación estándar del área neta del ^{203}Hg , esta se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$\sigma_{^{203}\text{Hg}} = \left[(0,3923 \cdot \sigma_{264\text{KeV}})^2 + (\sigma_{279\text{KeV}})^2 \right]^{1/2}$$

2.9.2.4. Desviación Estándar en Actividad Total Corregida por Tiempo de Decaimiento y Tiempo de Contaje

Una vez que se tiene la desviación estándar del área neta del fotopico de ^{203}Hg en 279 KeV se trabaja de la misma manera que en el cálculo de las actividades medida y corregida, es decir se les divide por el tiempo de contaje, como en el caso de la actividad medida, y luego se hace las correcciones por tiempo de decaimiento y tiempo de contaje, como en el caso de la actividad corregida, pues todos estos valores se mantienen constantes para la desviación estándar.

2.9.2.5. Desviación Estándar en Cálculo de Concentraciones

Para el cálculo de las desviaciones estándares de las concentraciones de Hg en las muestras se utiliza la siguiente fórmula:

$$\sigma_{[X \text{ ppm}]} = \left[(A_p^2 \sigma_m^2 + A_m^2 \sigma_p^2) / A_p^4 \right]^{1/2}$$

A este valor calculado se le multiplica por el peso del patrón (μg) y se le divide por el peso de la muestra (g), para tener el resultado en el orden de ppm, como en el cálculo de las concentraciones de Hg en las muestras, esto se realiza debido a que estos valores permanecen constantes para la desviación estándar.

2.9.2.6. Desviación Estándar en Cálculo de la Concentración Promedio

Para el cálculo de desviaciones estándares en la concentración promedio se tiene que ésta será la raíz cuadrada de la suma de las desviaciones estándares de cada valor al cuadrado, es decir:

$$\sigma = [\sigma_1^2 + \sigma_2^2 + \sigma_3^2 + \dots]^{1/2}$$

2.9.2.7. Desviación Estándar Promedio de Resultados

Para el cálculo de la desviación estándar del promedio de resultados, se debe calcular primero la desviación estándar del resultado, la cual se calcula de la siguiente manera:

$$\sigma = \left[\sum_{i=1}^n \frac{([\%ppm]_i - [\bar{X}_{ppm}])^2}{n-1} \right]^{1/2}$$

Luego de realizar este cálculo, se realiza el cálculo de la desviación estándar del promedio de resultados, mediante la siguiente fórmula:

$$\sigma_{[\bar{X}_{ppm}]_n} = \left[\frac{\sigma^2}{n} \right]^{1/2}$$

donde n es el número de datos considerados.

2.9.3. Descarte de Datos - Test Q ⁽³⁴⁾

Este test consiste en poder comprobar si un valor del que se sospecha que está fuera de rango, está o no en él. El camino para lograr esta declaración de una medida sospechosa es el de comparar la diferencia entre éste y la medida más cercana a ella en dimensión, con la diferencia entre la mayor y la menor medida. La razón de esta diferencia (sin conside-

ración de signo) es sabida como la Q de Dixon.

$$Q = \frac{|\text{valor sospechoso} - \text{valor más cercano a él}|}{(\text{valor más grande} - \text{valor más pequeño})}$$

El valor crítico de Q para $P = 0,05$ y $P = 0,01$ están dados en la Tabla 12. Si el valor calculado de Q excede el valor crítico, entonces el valor sospechoso es rechazado.

Por el contrario, si es que el valor calculado de Q no excede el valor crítico ($P = 0,05$), entonces la medida sospechosa debería conservarse.

Tabla 12 : Valores Críticos de Q ($P = 0,05$)

Número de Muestras Efectuadas	Valor Crítico
4	0,831
5	0,717
6	0,621
7	0,570
8	0,524
9	0,492
10	0,464

2.9.4. Límite de Detección de Cada Muestra ^(11, 42)

Para el cálculo de límite de detección se utiliza el método de Rogers ⁽⁴²⁾, V.C., donde el fondo (B) se calcula, en éste caso, de la siguiente manera:

$$B = \frac{1}{2} (N - 2) (B_1 + B_N)$$

El fondo que se usa en esta definición es $(N - 2)$ en vez de N , porque los canales 1 y N no contribuyen con cuentas en el área neta.

Luego para calcular el límite de detección (L_D) se usa la siguiente fórmula:

$$L_D = k^2 + 2k\sqrt{B}$$

donde $k = 1,645$.

Los resultados de límite de detección obtenidos se observan en la Tabla 13.

Tabla 13 : Límite de Detección de las Muestras

Muestra	Límite de detección en ppm
pulpa de pescado homogenizado	0,132 ± 0,072
riñón de caballo	0,143 ± 0,026
copepodo homogenizado	0,075 ± 0,016
leche en polvo	0,088 ± 0,040

2.8.4. Resultados Obtenidos

Los resultados obtenidos se observan en la Tabla 14.

Tabla 14 : Resultados Obtenidos de Contenido de Hg en las Muestras
(en ppm)

Muestra	Cantidad de Hg en ppm
pulpa de pescado homogenizado	0,556 ± 0,017
riñón de caballo	0,906 ± 0,075
copepodo homogenizado	0,168 ± 0,025
leche en polvo	no se ve

3. DISCUSION DE RESULTADOS

3.1. Los Radioisótopos usados para la Determinación del Mercurio en Muestras Medio Ambientales (1, 5, 50, 52)

De los radioisótopos de mercurio producidos por irradiación neutrónica solamente aquellos que tienen vidas medias largas son usados para la determinación de mercurio en las muestras medio ambientales (Tabla 15).

Tabla 15 Radioisótopos usados para la determinación de mercurio en muestras ambientales

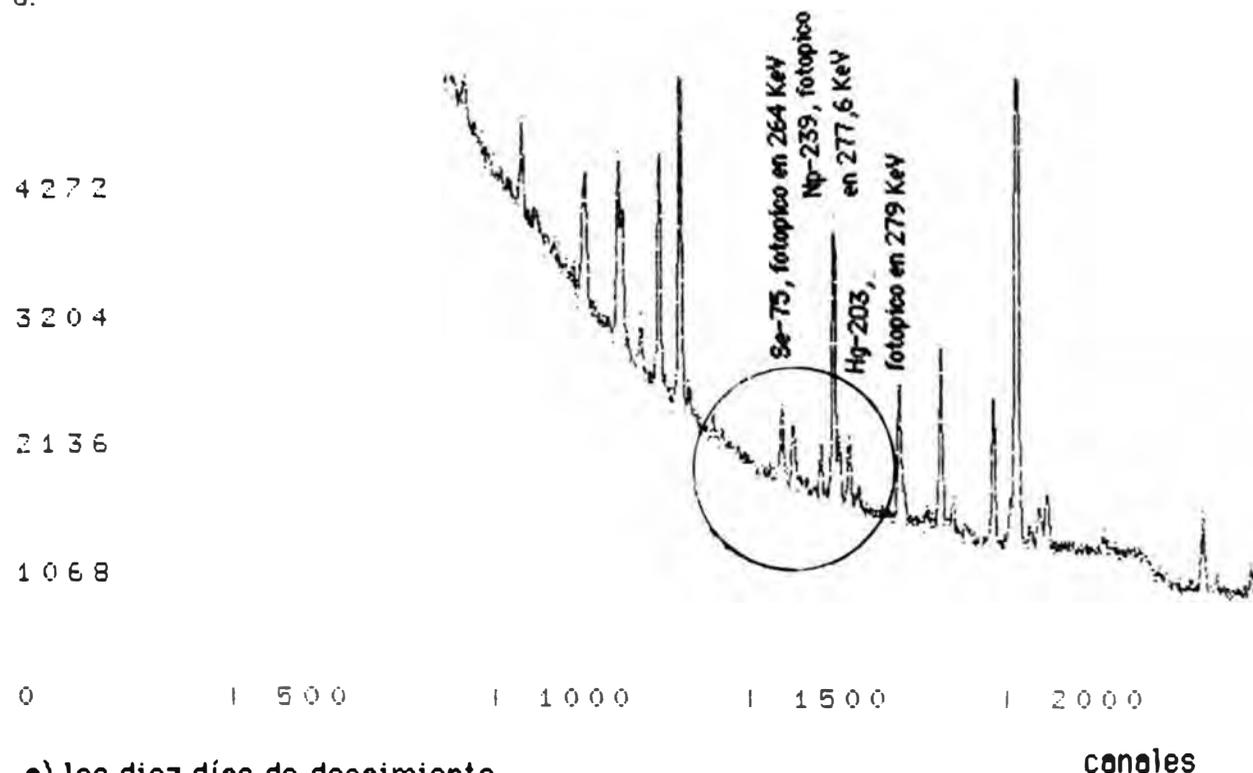
Blanco de isótopo	Abundancia natural	Sección eficaz de activación neutrónica barns	Producto de activación	Vida-media	Energía de principales rayos X y γ , KeV y % de emisión absoluta (fotón) 100 desintegraciones	Posible interferencia nuclear
	0,146	420 ± 80	^{197m}Hg	23,8 h	X-67,0(1,8), 68,8(3,3), 70,8(14,5), 77,9(1,1), 80,2(5,1) γ -134(30,2), 279(4,5)	no
		880 ± 175	^{197}Hg	64,1 h	X-67,0(19,8), 68,8(36), 77,9(12,6) γ -77,3(19,5), 191(0,56)	
	29,80	3,8 ± 0,8	^{203}Hg	46,59 d	γ -279(81,5)	$^{203}\text{Tl}(n,p)^{203}\text{Hg}$ $^{206}\text{Pb}(n,\alpha)^{203}\text{Hg}$
^{198}Hg	10,02	0,018 ± 0,004	^{199m}Hg	42,6 min	γ -156(58,4)	

Este hecho es debido a que los materiales del medio ambiente usualmente contienen relativamente altas concentraciones de elementos activables (Na, K, Br, P) que forman radioisótopos con vidas medias del orden de horas (^{24}Na , ^{82}Br , ^{42}K) o días (^{32}P) (22). Por esto, para determinar el mercurio (al nivel de sub-ppm) es necesario separarlo de los radioisótopos de la matriz interferentes o permitir que el último decaiga.

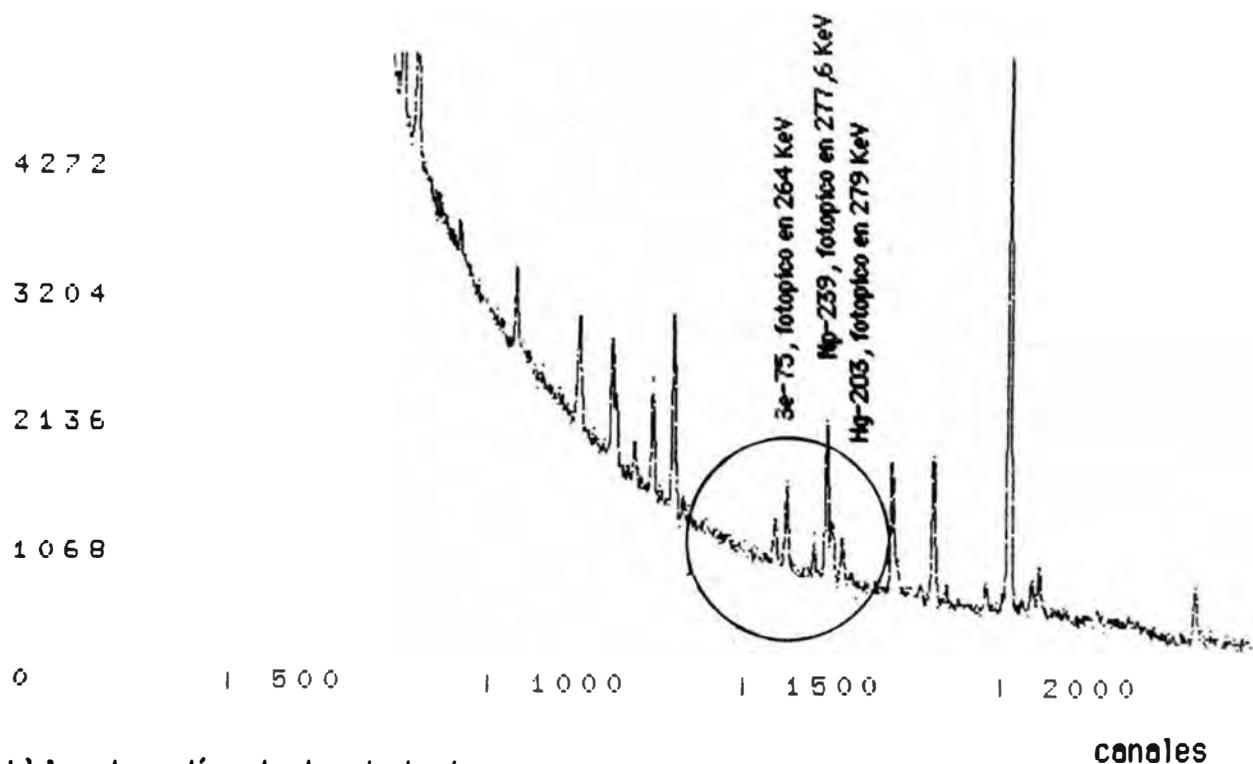
En el presente trabajo, por tratarse de muestras del medio ambiente, como se ha expuesto anteriormente se tienen las interferencias mencionadas, motivo por el cual se espera a que éstas decaigan, pues el trabajo se realiza por métodos instrumentales, el contaje se realiza luego de un mes o más, para el isótopo de ^{203}Hg . Si el trabajo se realizara por métodos radioquímicos entonces se separarían las matrices interferentes y luego se realizaría el contaje.

Como se menciona en la parte teórica las interferencias que se encuentran son el ^{75}Se , el cual se trata más adelante, la radiación de bremsstrahlung del ^{32}P , así como el Compton continuo de los rayos gamma más energéticos y las antes mencionadas interferencias (^{24}Na , ^{82}Br , ^{42}K), todas estas interferencias decaen notablemente al mes pudiendo de esta forma realizar el contaje del fotopico de 279 KeV de ^{203}Hg luego de un período de un mes hasta dos meses de enfriamiento. No se debe esperar a que decaiga más tiempo, pues en la primera vida media el isótopo decae 50 % y en la segunda decae 75 %, luego sigue decayendo de una manera exponencial, por lo que si se esperara más tiempo para hacer la medición puede decaer lo suficiente para no poder apreciar el fotopico con nitidez, pues la cantidad de mercurio presente es muy pequeña. Lo recomendable es que el contaje se realice en la primera vida media y a más tardar en la segunda vida media. En particular, para el presente trabajo el contaje se realiza durante la primera vida media, sólo se espera que decaigan las interferencias. Esto se puede apreciar en los espectros tomados en las mismas condiciones a los diez días, a los doce días, a los dieciocho días y a los cuarenta y cinco días, con sus respectivas ampliaciones, que se ven a continuación, (Figuras 1, 2, 3). Estos espectros son tomados para mostrar gráficamente por qué se cuenta al mes o más (45 días) el ^{203}Hg y no antes. Aquí se puede apreciar claramente cómo el Compton continuo tapa el fotopico y luego de un tiempo éste comienza a aparecer pudiéndose medir a partir del mes sin

Figura 1 : Espectro de la muestra de riñón de caballo tomados en las mismas condiciones de tiempo (7000 seg), distancia al detector (1,5 cm + distancia de la mica (0,6 cm) + distancia del radio de la ampolla (0,3 cm))
 a):

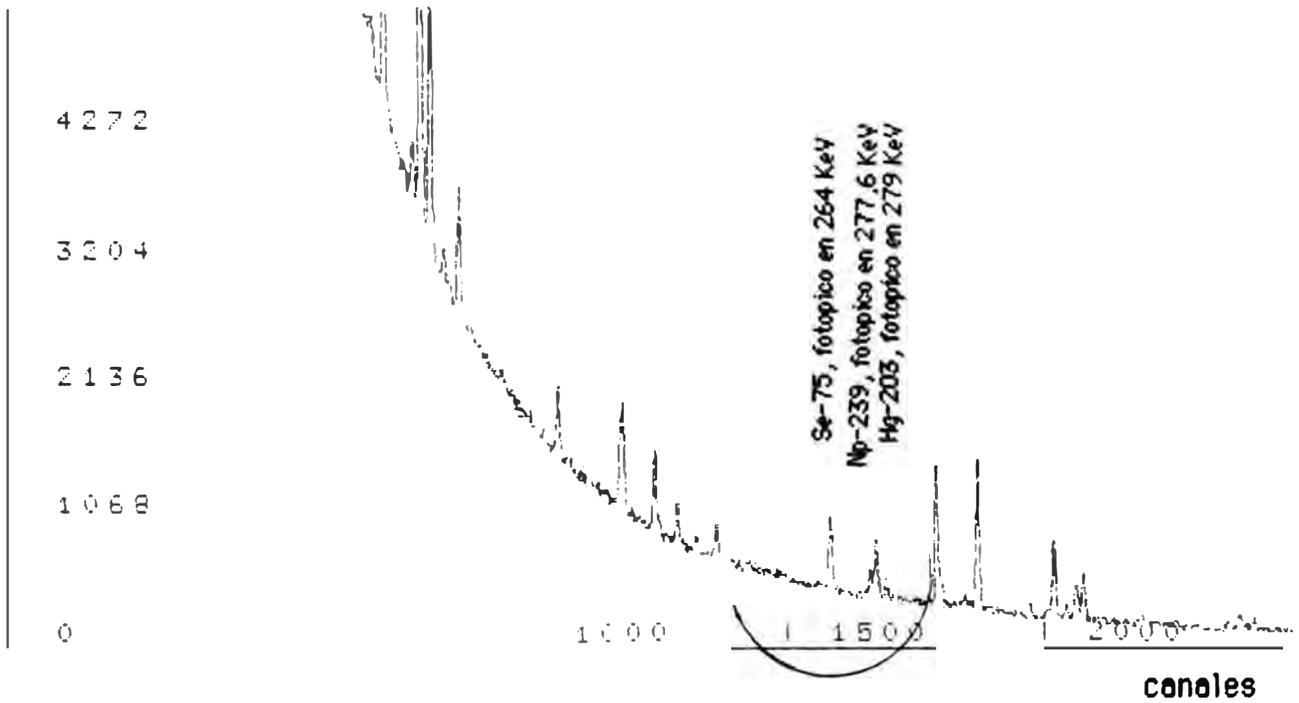


a) los diez días de decaimiento



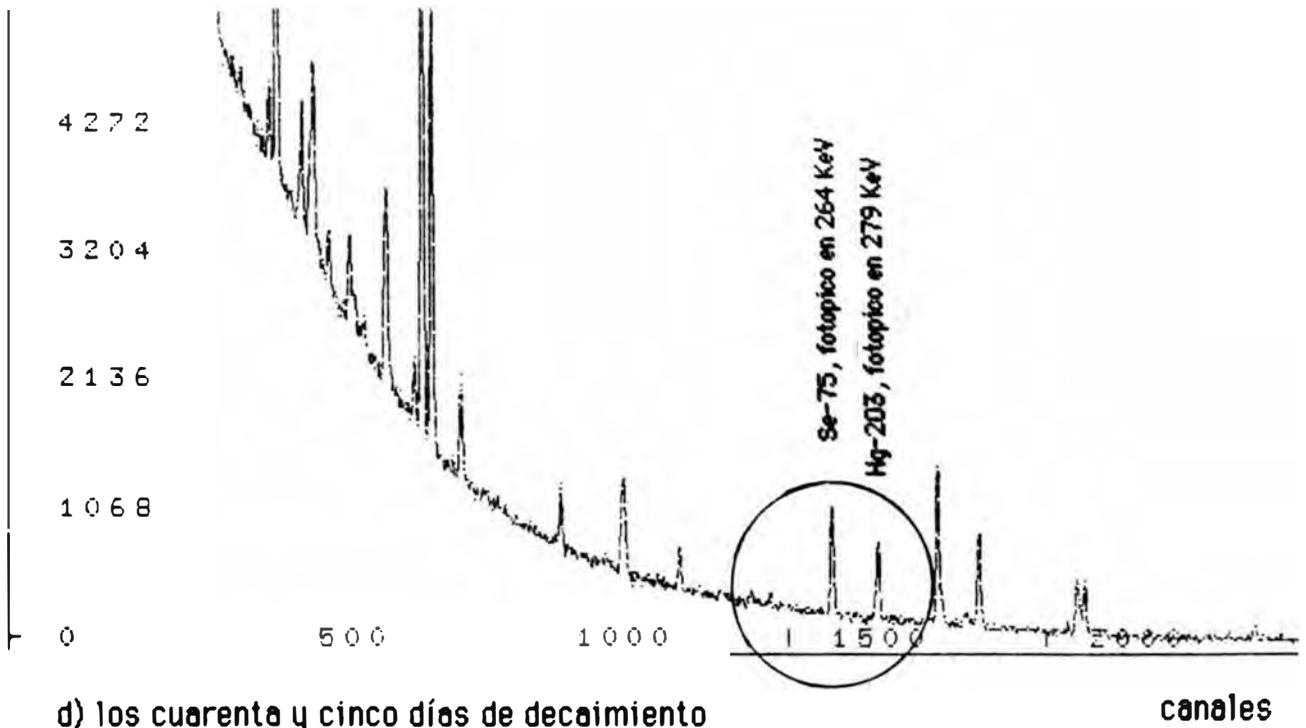
b) los doce días de decaimiento

cuentas



c) los dieciocho días de decaimiento

cuentas



d) los cuarenta y cinco días de decaimiento

Figura 2 : Ampliación del espectro en la zona de interés (donde está el fotopico de ^{203}Hg (en 279 KeV) y el de ^{75}Se (en 264 KeV)) de la muestra de riñón de caballo, mostrando como se ven los fotopicos al momento de contaje, tomados en las mismas condiciones de tiempo (7000 seg), distancia al detector (1,5 cm + distancia de la mica (0,6 cm) + distancia del radio de la ampolla (0,3 cm)) a:

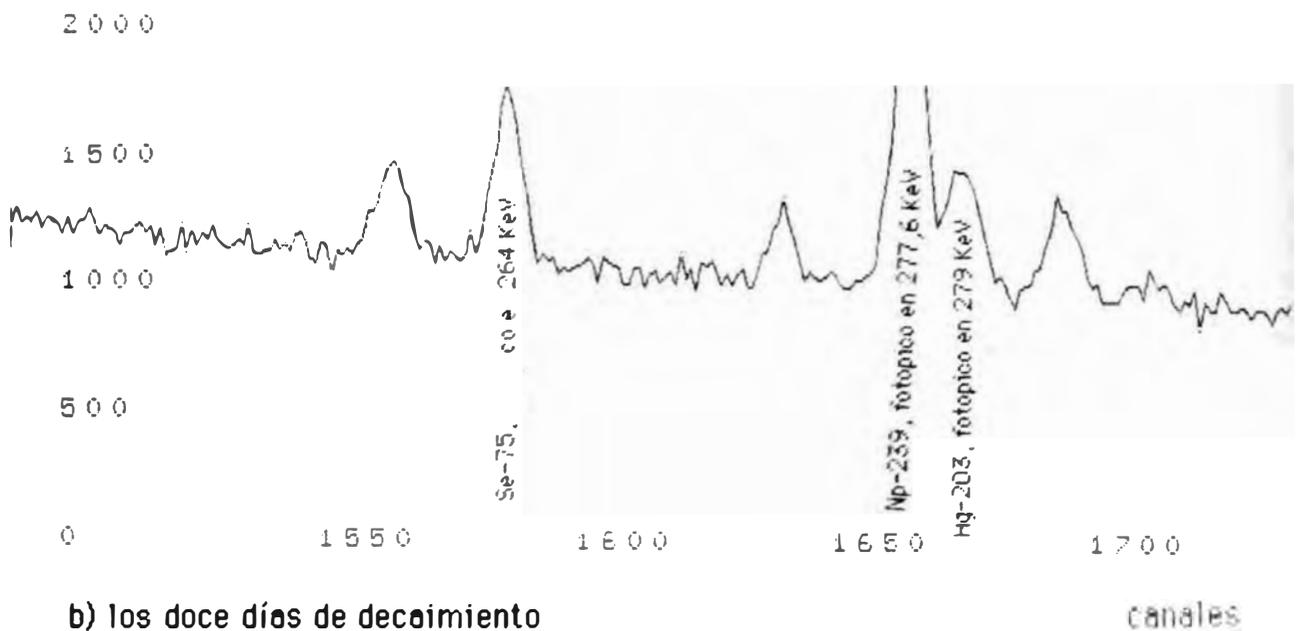
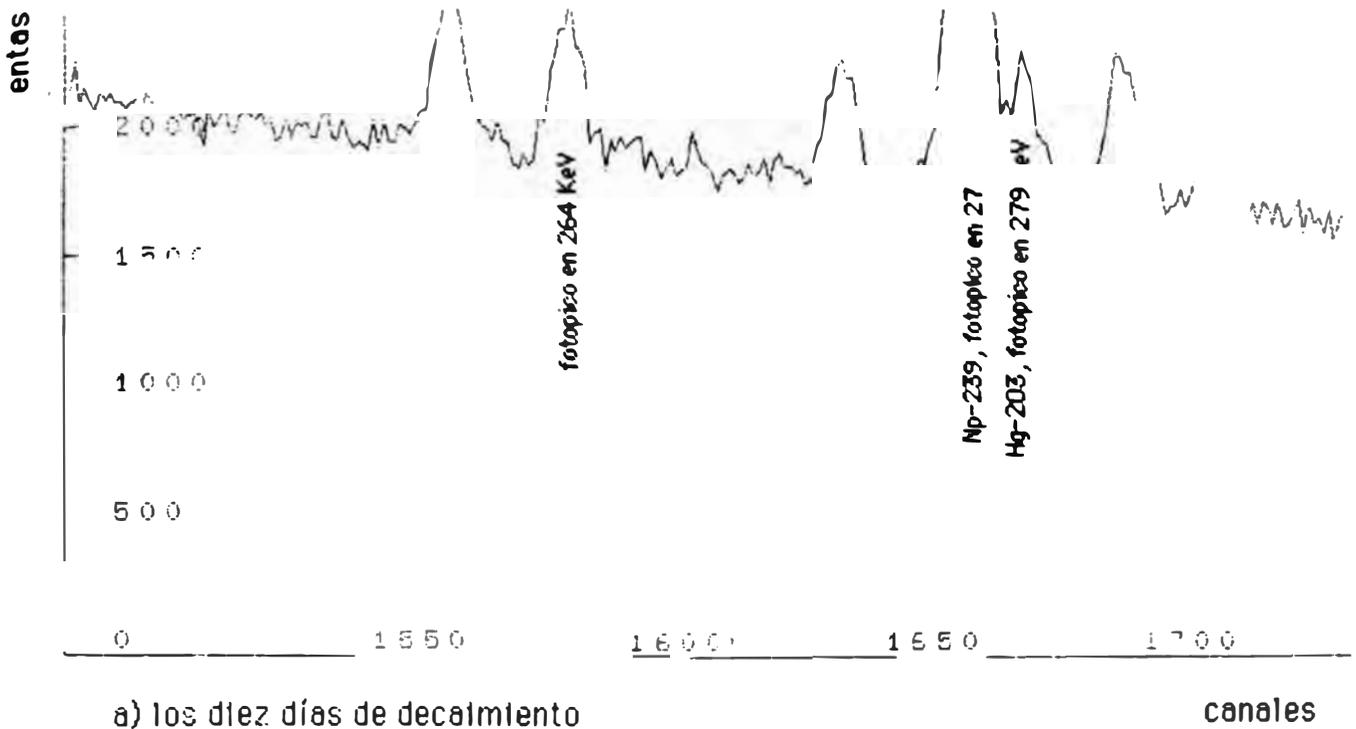
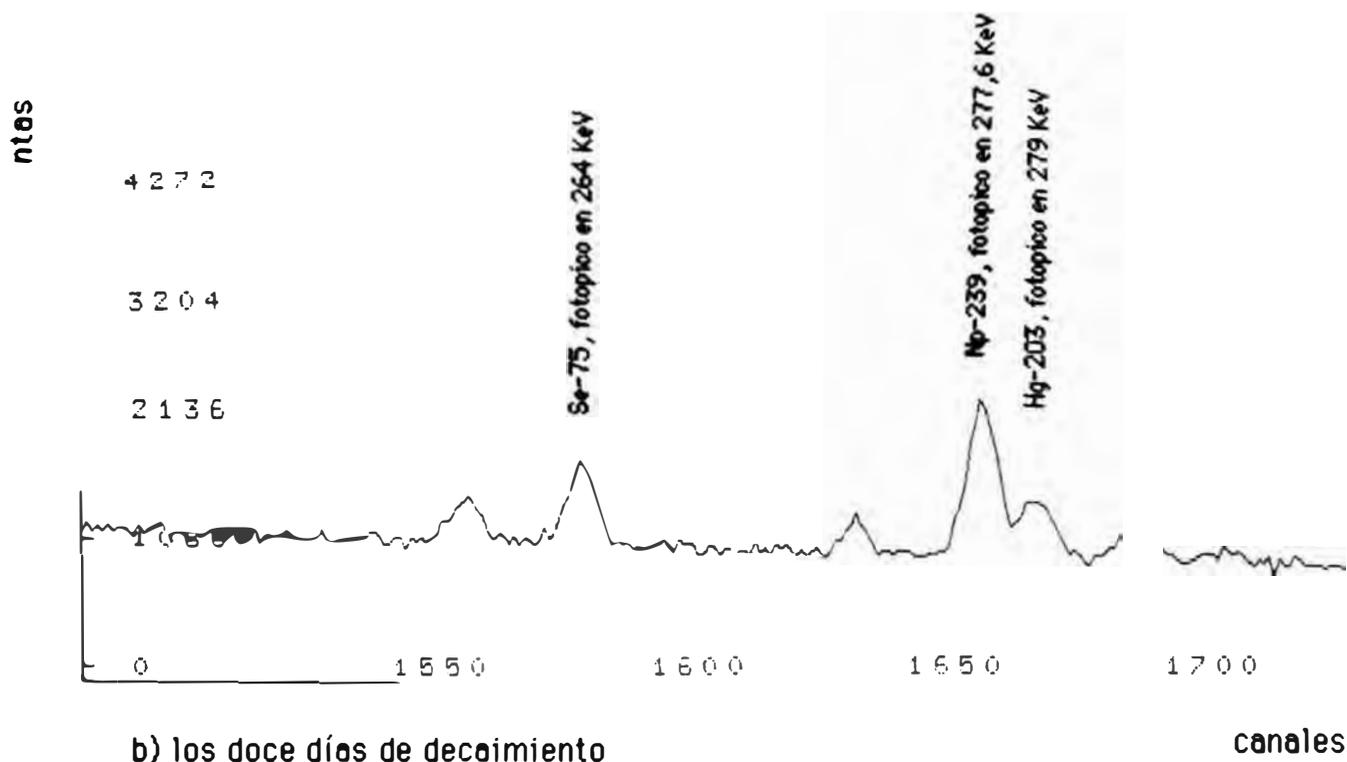
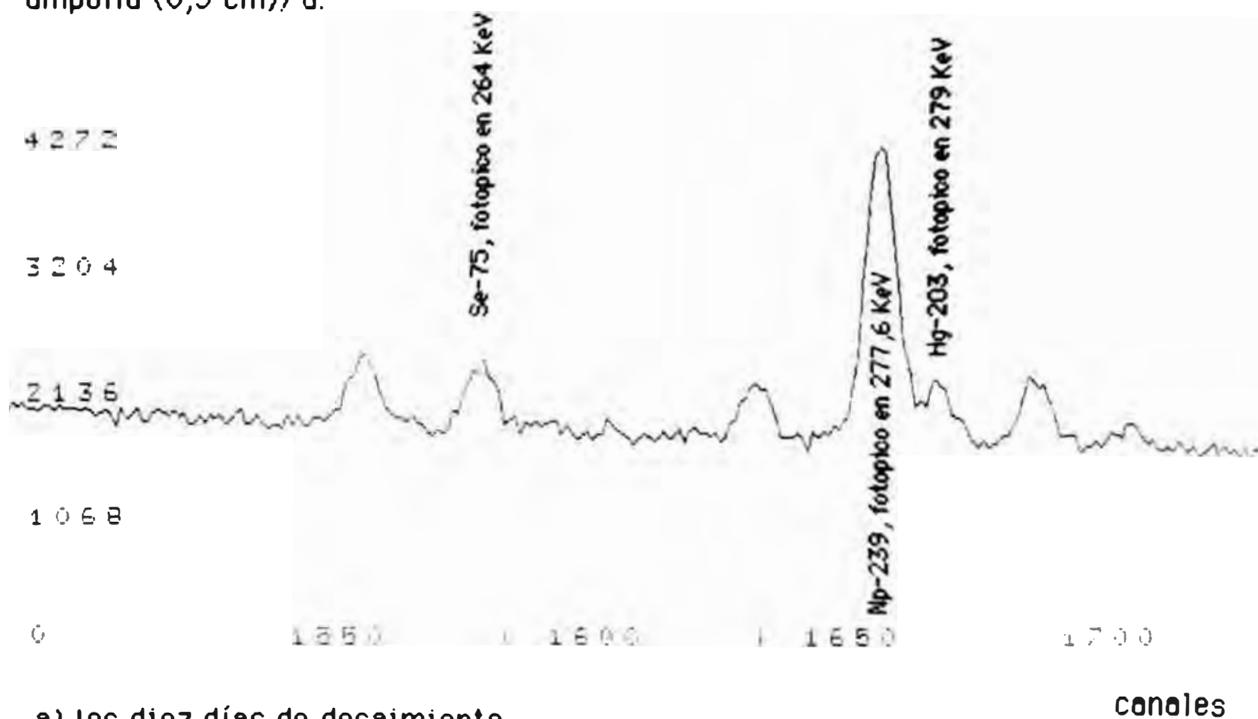
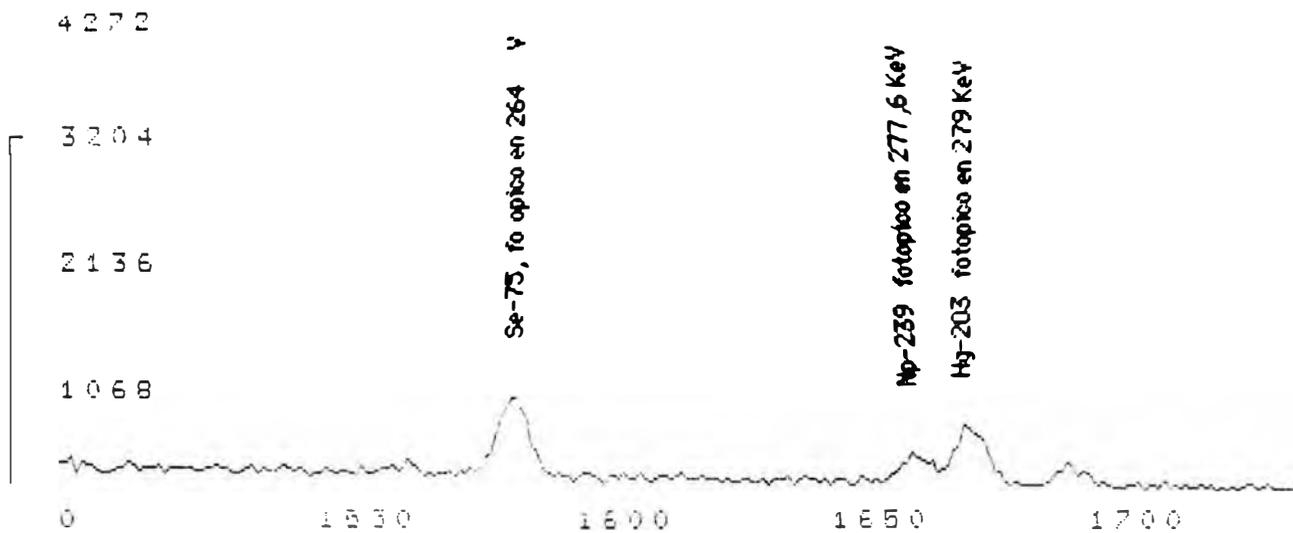


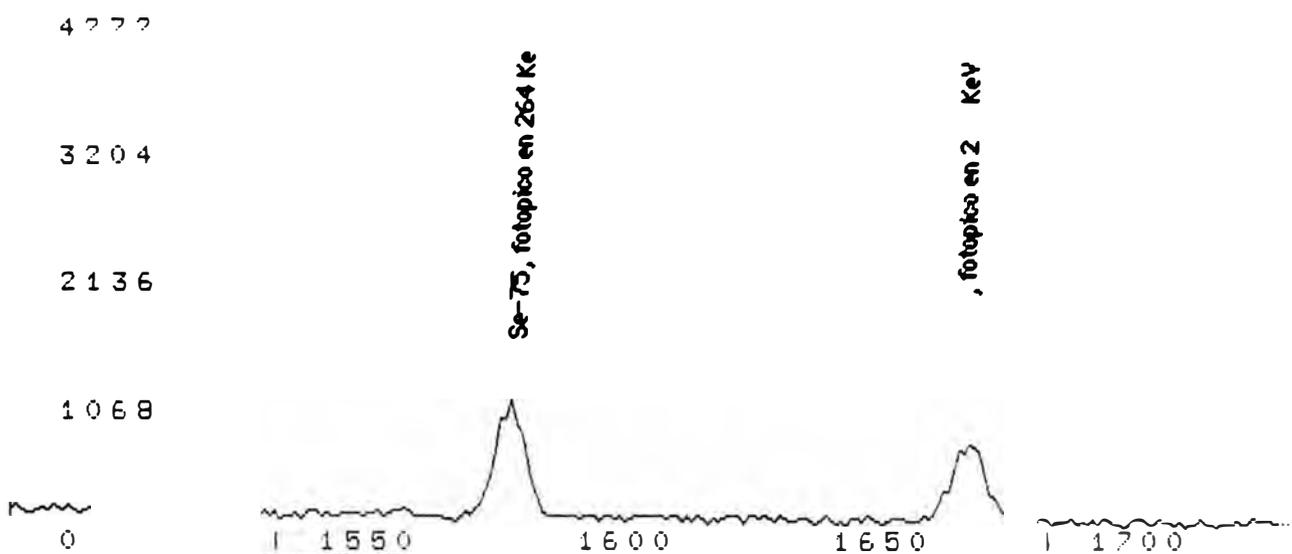
Figura 3 : Ampliación del espectro en la zona de interés (donde esta el fotopico de ^{203}Hg (en 279 KeV) y el de ^{75}Se (en 264 KeV)) de la muestra de riñón de caballo, mostrando los fotopico interferentes completamente, tomados en las mismas condiciones de tiempo (7000 seg), distancia al detector (1,5 cm + distancia de la mica (0,6 cm) + distancia del radio de la ampolla (0,3 cm)) a:





c) los dieciocho días de decaimiento

canales



d) los cuarenta y cinco días de decaimiento

canales

ningún inconveniente. También se puede apreciar la interferencia debida al ^{238}U que se activa y luego de un mes decae, para mostrar un espectro con sólo la interferencia debida al ^{75}Se .

El análisis por activación neutrónica del mercurio en muestras ambientales está esencialmente basado en dos radioisótopos, ^{197}Hg y ^{203}Hg . Otros radioisótopos ($^{197\text{m}}\text{Hg}$, $^{199\text{m}}\text{Hg}$) han sido usados ocasionalmente.

La reacción nuclear $^{196}\text{Hg} (n, \gamma) ^{197}\text{Hg}$ asegura la alta sensibilidad debida a la alta activación. La vida media del producto de la reacción ($T_{1/2} = 64,1 \text{ h}$) permite usar tiempos relativamente cortos de irradiación, mientras que al mismo tiempo es suficientemente largo para permitir la separación radio-química de mercurio. Una desventaja al usar ^{197}Hg es la baja energía de radiación de los rayos gamas, (los que son difíciles de medir en la presencia de rayos gamas más energéticos de otros radioisótopos).

La reacción $^{202}\text{Hg} (n, \gamma) ^{203}\text{Hg}$ es menos favorable desde el punto de vista de sensibilidad y de tiempo de irradiación. Por otro lado, la vida media larga del ^{203}Hg ($T_{1/2} = 46,59 \text{ d}$) permite llevar a cabo una determinación no-destruktiva de mercurio después de un periodo de enfriamiento adecuado para permitir decaer la actividad de la matriz. Dos reacciones nucleares son posibles: $^{203}\text{Tl} (n, p) ^{203}\text{Hg}$ y $^{206}\text{Pb} (n, \alpha) ^{203}\text{Hg}$. Sin embargo, sus efectos en la determinación de mercurio son insignificantes debido a las bajas secciones eficaces y bajo contenido de Tl y Pb en muestras ambientales. Por tratarse en este trabajo de una técnica no destructiva se utiliza éste radioisótopo, el ^{203}Hg , para realizar los contajes, por su tiempo de vida media más largo.

Errores debidos a los propios protectores en los estándares de mercurio son posibles porque el mercurio exhibe una absorción alta de neutrón de

sección eficaz (3100 barns por ^{196}Hg), sin embargo para las cantidades de mercurio usadas como estándares en los análisis de muestras ambientales (usualmente menores que 1 μg) estos errores son insignificantes.

3.2. Determinación de la Ausencia de Interferencias en Ampollas de Cuarzo en el Fotopico en 279 KeV de ^{203}Hg

Luego de realizar los contajes a una semana, a dos semanas, a tres semanas y al mes se observa que aparece la señal en 277,6 KeV debida al ^{238}U irradiado que pasa a ^{239}Np y éste tiene una vida media de 2,355 días, por lo que al cabo de un mes no hay señal apreciable. Por consiguiente, se pueden realizar los contajes de las muestras y los patrones sin ninguna interferencia alguna debida a las ampollas de cuarzo luego de un mes, pues la única interfeerencia desaparece al cabo de este tiempo.

3.3. Algunos Problemas en Análisis por Activación de Mercurio (24, 46, 50, 52)

Ya que la concentración de mercurio en las muestras ambientales tiene generalmente muy bajas pérdidas de mercurio debido a la absorción en envases (16) pueden ocurrir pérdidas durante su almacenamiento, irradiación o tratamiento químico en las muestras. La alta volatilidad del mercurio y sus compuestos pueden causar serias pérdidas via volatilización por sus estados en el procedimiento analítico.

3.3.1. Pérdidas por Almacenamiento

Pérdidas de mercurio durante el almacenamiento de soluciones de mercurio diluídas han sido informadas e investigadas por muchos autores. Sigue, de esos trabajos que las pérdidas de mercurio a nivel de sub-ppm pueden ser significativas (hasta varios cientos de porcentaje). Las

sección eficaz (3100 barns por ^{196}Hg), sin embargo para las cantidades de mercurio usadas como estándares en los análisis de muestras ambientales (usualmente menores que 1 μg) estos errores son insignificantes.

3.2. Determinación de la Ausencia de Interferencias en Ampollas de Cuarzo en el Fotopico en 279 KeV de ^{203}Hg

Luego de realizar los contajes a una semana, a dos semanas, a tres semanas y al mes se observa que aparece la señal en 277,6 KeV debida al ^{239}U irradiado que pasa a ^{239}Np y éste tiene una vida media de 2,355 días, por lo que al cabo de un mes no hay señal apreciable. Por consiguiente, se pueden realizar los contajes de las muestras y los patrones sin ninguna interferencia alguna debida a las ampollas de cuarzo luego de un mes, pues la única interfeerencia desaparece al cabo de este tiempo.

3.3. Algunos Problemas en Análisis por Activación de Mercurio (24, 46, 50, 52)

Ya que la concentración de mercurio en las muestras ambientales tiene generalmente muy bajas pérdidas de mercurio debido a la absorción en envases ⁽¹⁶⁾ pueden ocurrir pérdidas durante su almacenamiento, irradiación o tratamiento químico en las muestras. La alta volatilidad del mercurio y sus compuestos pueden causar serias pérdidas via volatilización por sus estados en el procedimiento analítico.

3.3.1. Pérdidas por Almacenamiento

Pérdidas de mercurio durante el almacenamiento de soluciones de mercurio diluidas han sido informadas e investigadas por muchos autores. Sigue, de esos trabajos que las pérdidas de mercurio a nivel de sub-ppm pueden ser significativas (hasta varios cientos de porcentaje). Las

pérdidas dependen de la acidez y de la composición de la solución y el aumento con el tiempo de almacenamiento. Las pérdidas por envases de polietileno son más altas que en las de vidrio. Significativas pérdidas también han sido observadas en teflón. De acuerdo a una referencia (52), el teflon es más conveniente que el vidrio o polietileno.

El mecanismo de las pérdidas de mercurio por envases de polietileno o vidrio ha sido investigado por Benes y Benes & Rajman. Se ha encontrado que la absorción física es responsable por las pérdidas por envases de polietileno mientras que la absorción química además de la absorción física está involucrada en las pérdidas en envases de vidrio.

Pérdidas de mercurio durante el almacenamiento también se producen por volatilización. La reducción de Hg(II) y desproporcionamiento de Hg(I) a Hg(II) y Hg(0) seguidas por volatilización de la última han sido sugeridas como un posible mecanismo de estas pérdidas.

Varias medidas han sido propuestas para prevenir pérdidas de mercurio en soluciones diluidas durante el almacenamiento. Las pérdidas en soluciones acidificadas son menores, aunque todavía ocurren. Solamente el ácido nítrico previene efectivamente las pérdidas de mercurio. Algunos autores recomiendan la adición de fuertes agentes oxidantes, por ejemplo KMnO_4 o iones $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$. Ninguna pérdida fue observada de soluciones 5 % v/v en HNO_3 conteniendo 0,05 % de iones $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ durante el almacenamiento en envases de vidrio y polietileno durante 5 meses y 100 días, respectivamente. Soluciones de mercurio acidificadas a $\text{pH} < 1$ y < 5 pueden ser almacenadas por 5 y 8 días, respectivamente sin significativas pérdidas. Por este motivo en el presente trabajo se conserva los estándares de mercurio en una disolución de HNO_3 diluido 1 M, para evitar pérdidas significativas.

3.3.2. Pérdidas durante la Irradiación

Significativas pérdidas de mercurio tienen lugar durante la irradiación de las muestras estándares en envases de polietileno. El mercurio se pierde por la adsorción y volatilización, la última siendo acrecentada por las elevadas temperaturas en los canales de irradiación y la densidad del flujo neutrónico. Pérdidas de hasta el 80 % fueron observadas durante la irradiación de 12 - 65 hrs a un flujo neutrónico de $10^{12} \text{n.cm}^{-2} \cdot \text{seg}^{-1}$ mientras que fueron insignificantes por irradiación de 5 - 10 min a $5 \times 10^{13} \text{n.cm}^{-2} \cdot \text{seg}^{-1}$. Las pérdidas de mercurio de soluciones acidificadas fueron insignificantes por tiempos de irradiación hasta 1 hr a un flujo neutrónico de $10^{12} \text{n.cm}^{-2} \cdot \text{seg}^{-1}$. Adición de ácidos o de agentes acomplejantes no previenen pérdidas de mercurio por irradiación. Las pérdidas parecen depender de la naturaleza de las muestras.

Para minimizar las pérdidas de mercurio, en el presente trabajo, durante la irradiación y el sellado de las ampollas, los patrones se precipitan como HgS para evitar volatilización, y luego las ampollas de cuarzo conteniendo patrones y muestras se congelan antes de sellarlas, con N_2 líquido, cuidando que el sellado sea totalmente hermético y son irradiadas en "canes" de aluminio, igualmente herméticos, de ésta forma son irradiadas en estado congelado. Sin embargo se observó previamente en unas pruebas realizadas sin precipitar el patrón de mercurio como HgS. En estas pruebas se procedió a irradiar el patrón de mercurio en solución ácida que fué agregada a la celulosa dentro de las ampollas, luego se procedió al sellado, previo congelamiento con N_2 líquido, para evitar pérdidas. Se obtuvieron resultados sumamente malos, pudiéndose apreciar fuertes pérdidas en los patrones luego de la irradiación, comprobándose lo expuesto con anterioridad.

De manera de evitar las pérdidas de mercurio durante la irradiación Brune y sus colaboradores llevaron a cabo una irradiación a -40°C en un criostato (enfriado con hielo seco), subiendo la facilidad de irradiación. La irradiación usada fué de más de 15hrs. El enfriamiento de muestras durante la irradiación también fue aplicado por otros investigadores

3.3.3. Pérdidas en el "Secado por Congelamiento" (Liofilización)

Muestras ambientales son a menudo líquidas o sólidas conteniendo considerables cantidades de agua. Líquidos o muestras con alto contenido de humedad no pueden estar sujetos a largo tiempo de irradiación y/o flujos neutrónicos ya que la alta presión que se da en los envases como resultado de radiólisis de agua o descomposición de substancia orgánica (con la formación de productos gaseosos) puede conducir a la rotura del envase de muestras. Por otro lado, el secado de las muestras inclusive a temperaturas moderadas conduce a serias pérdidas de mercurio.

Actualmente es una práctica común someter a las muestras de contenido alto de agua al "secado - congelado". Sin embargo no está muy claro si las pérdidas durante el "secado por congelamiento" ocurren. Algunos autores observan pérdidas significativas mientras que otros no.

En el presente trabajo se observan resultados diferentes en esta técnica, es decir cuando las muestras son sólidas y tienen porcentajes de humedad alto, que es el caso de todas las muestras con las que se trabaja, no se observan pérdidas al "secarlas congelándolas", pues se obtienen buenos resultados, sin embargo no es el caso cuando se irradian patrones líquidos, pues como se menciona a continuación, se observan pérdidas significativas. En oposición a esto en el caso del patrón precipitado como HgS , no se observan pérdidas significativas, y esto da una pauta sobre el tratamiento que el mercurio debe seguir, pues como ya se ha mencionado es sumamente volátil. Se observa que esta técnica es muy adecuada para el aná-

lisis de mercurio, pero en muestras sólidas.

Si se irradian estándares húmedos se observan pérdidas de alrededor del 10 % de ^{203}Hg , según algunos autores, pero no se observan pérdidas en estándares secos ⁽⁴⁶⁾. Esto se comprueba en el presente trabajo, pues se observan pérdidas significativas cuando se irradian estándares húmedos, no así cuando se irradian los estándares precipitados como HgS , en los cuales no se observan pérdidas. En el presente trabajo se realizaron pruebas preliminares de irradiación de patrones húmedos, es decir, en ampollas de cuarzo ultrapuro se introduce la celulosa de la misma forma ya mencionada y luego se introduce el patrón de mercurio en solución de HNO_3 diluido a pH 1, por último éstas son selladas congelándolas previamente con N_2 líquido, el resultado que se obtiene es que se observan pérdidas significativas, por este motivo se opta por el segundo método, en el cual se precipita el patrón de mercurio como HgS .

El comportamiento de mercurio inorgánico, alcalino y arilmercurio durante el "secado - congelado" de varios materiales biológicos fué investigado por La Fleur. El porcentaje de pérdidas no excedió el 3 %. Sin embargo, en algunos fluidos biológicos o soluciones en HCl la pérdida fué significativa. En los fluidos biológicos las pérdidas pueden ser reducidas a menos del 10% añadiendo cisteína o heparina. En contradicción a los datos arriba mencionados Litman y co-autores informan pérdidas de hasta 70 % después del "secado por congelamiento" de pescado, harina y muestras de sedimento. Las pérdidas de mercurio inorgánico parecen depender de la acidez de la solución. Las pérdidas de mercurio inorgánico y metilmercurio después del secado por congelamiento de soluciones acuosas también fueron investigadas por Foldzinska y Zmijewska, quienes encontraron que el mercurio se retuvo cuantitativamente en celulosa pretratada con tioacetamida. Esta técnica se utiliza en el presente trabajo con buenos

resultados, como se podrá apreciar más adelante. Montalvo y colaboradores investigaron pérdidas de Hg(II) después del "secado por congelamiento" de muestras acuosas con dependencia de la acidez.

3.3.4. Otras Pérdidas

Las pérdidas de mercurio durante el calentamiento a temperaturas moderadas, baja temperatura, cenicienta o cenizas húmedas de las muestras han sido reportadas como menores de 1 µg de mercurio. También han sido reportadas pérdidas de mercurio durante la liofilización⁽²⁵⁾, durante la apertura de ampollas⁽¹⁶⁾ y durante la digestión^(12, 18, 20, 40).

3.3.5. Preparación de Estándares de Mercurio para Irradiación

Pocas veces ha sido usado el análisis de activación absoluto para la determinación de mercurio en muestras ambientales. Es una práctica común irradiar las muestras juntas con estándares adecuados.

La preparación de los estándares de mercurio para irradiación presenta algunas dificultades. La irradiación de cantidades en miligramos de mercurio compuesto puede conducir a errores de los propios protectores. La evaporación de soluciones estándares conteniendo cantidades en microgramos de mercurio en los envases de irradiación puede resultar en serias pérdidas de mercurio por volatilización.

Por otro lado, grandes cantidades (decenas de mililitros) de soluciones no pueden ser irradiadas por largos períodos y un flujo alto de densidad neutrónica.

En el presente trabajo los patrones de mercurio son preparados por probetas de (10 - 50 µL) y de (200 - 1000 µL) de soluciones estándares en ampollas de cuarzo y luego se sellan las ampollas, previamente congeladas en N₂ líquido. Soluciones estándares son probeteadas en un portador adecuado, aquí se usa celulosa, y son luego irradiados.

Randa y colaboradores usaron estándares multielementos conteniendo mercurio preparados probeteando soluciones estándares respectivamente sobre papel filtro. Los estándares fueron luego irradiados en envases de polietileno. Los autores sostienen que no ocurren pérdidas de mercurio durante la irradiación. Ellos sugieren formación de compuestos intermetálicos como una posible explicación de la ausencia de pérdidas de mercurio durante la irradiación. Kim y Sunoko usaron Au y Co (en forma de alambre de Al) en vez de mercurio.

Algunos autores recomiendan que se añada tioréa, cisteína, tioacetamida o sulfuro de amonio a los estándares para minimizar la volatilización de mercurio antes, durante y después de la irradiación neutrónica ⁽⁴⁶⁾. Es por este motivo que en el presente trabajo se hace reaccionar la solución que contiene el mercurio con tioacetamida para evitar pérdidas de mercurio por volatilización, de esta forma se precipita el HgS que es mucho más estable. El NH₃ se adiciona para darle el medio básico adecuado, para que ocurra la reacción.

3.3.6. Preparación de Muestras para Irradiación

Muestras o fluidos de alto contenido de humedad están frecuentemente sujetos al secado por congelamiento antes de la irradiación. Las pérdidas de mercurio después del secado por congelamiento han sido discutidos arriba. Olmez y Aras irradiaron muestras biológicas en fuentes de ⁶⁰Co antes del secado por congelamiento de manera de convertir los compuestos volátiles de organomercurio a menos volátiles, y evitar pérdidas de mercurio.

El secado de las muestras a temperaturas elevadas ha sido raramente practicado ya que las pérdidas por volatilización son posibles.

Algunos autores llevaron a cabo el secado en desecadores al vacío sobre P₂O₅.

Los líquidos fueron congelados antes de la irradiación e irradiados en estado congelado de manera de reducir pérdidas de mercurio y prevenir la contaminación cruzada. Brune y Jirlow recomendaron derretir la capa exterior de la muestra irradiada para eliminar la contaminación de las paredes del envase.

En la literatura no se observan pérdidas en materiales biológicos después de la irradiación ⁽⁴⁶⁾. En el presente trabajo tampoco se observan pérdidas en las muestras luego de la irradiación.

3.4. Instrumentación Utilizada

La instrumentación utilizada en este trabajo es la recomendada en la literatura ^(9, 18, 25).

Sistema de contaje: Un detector planar de germanio hiperpuro (HPGe) con ventana de berilio (FWHM (resolución) de 1,6 KeV en el fotopico de 661,6 KeV de ¹³⁷Cs y 1,0 KeV en el fotopico de 122 KeV de ⁵⁷Co).

La característica principal y la gran ventaja de un detector de HPGe es su alta resolución en comparación con un detector de INa(Tl), habiéndose encontrado un factor de 30 en el FWHM (full width at half maximum) del nivel de cuentas. Es típica una resolución del orden de los 2 KeV para energía incidente de 1,33 MeV, lo que resulta claramente superior, en comparación con los 80 KeV que típicamente pueden lograrse con un detector de yoduro de sodio. Gracias a ésto, muchos niveles de energía nuclear pueden ser identificados fácilmente, gracias a los detectores de HPGe, pues antes éstos no eran vistos en detectores de INa(Tl). Esto ha hecho que la espectrometría gama evolucione notablemente ⁽⁴⁵⁾.

El detector planar, que es en particular el que se usa para este trabajo, resulta apto para la medición de fotones gama de baja energía. Suele utilizarse entre los 2 y los 200 KeV, para lo cual el criostato viene provisto de una ventana de berilio ⁽⁴⁵⁾.

3.5. Limitaciones de la Espectrometría Gama (24, 50)

Las limitaciones de la espectrometría afectan de un modo directo los resultados de los análisis. Las dos limitaciones más importantes de la espectrometría gama son la existencia en los espectros del fondo de Compton continuo, debido al efecto Compton de los rayos gama de altas energías, y los desplazamientos de ganancia y umbral debidos a la falta de estabilidad de los equipos electrónicos que se utilizan para la espectrometría gama.

La primera limitación afecta la sensibilidad de la detección de los fotopicos de energías correspondientes a las zonas del Compton continuo de picos de energías más altas y su magnitud depende de la complejidad del espectro y del número e intensidad de los fotopicos de energías altas, mientras que el desplazamiento de la ganancia y umbral afecta fundamentalmente en los casos de resolución mediante computadoras de espectros gama muy complejos.

Se han desarrollado métodos para evitar en lo posible ambas limitaciones existiendo diversos procedimientos para reducir o suprimir el Compton continuo del espectro, incrementando la magnitud relativa de los fotopicos, y para limitar o controlar la estabilidad de los componentes electrónicos de los espectrómetros.

- Supresión del Compton continuo de los espectros

La relación altura del pico a altura del Compton continuo de los espectros depende fundamentalmente del tamaño del cristal o volumen activo del detector. Esta relación ha sido mejorada progresivamente a medida que se manufacturaran cristales de mayor tamaño; sin embargo, al incrementarse el tamaño del cristal, aumento el fondo y decrece la resolución del detector por lo que este incremento tiene un limite definido.

Existen varios métodos instrumentales para suprimir el Compton continuo en los espectros gama haciendo uso de dos o más detectores y de circuitos electrónicos en coincidencia para rechazar los impulsos debidos al Compton e incrementar los correspondientes a los fotopicos.

En el presente trabajo el Compton continuo no es una fuerte interferencia luego del tiempo de espera adecuado (un mes o más), como se puede apreciar en la secuencia de figuras anteriores (Figuras 1, 2, 3), pues las muestras decaen notablemente en este tiempo haciendo de ésta manera que el Compton continuo disminuya y por consiguiente no interfiera en la medición.

- Desplazamientos de la ganancia y del umbral

Los desplazamientos de la ganancia y del umbral de los espectrómetros afectan a la forma y resolución de los espectros si tienen lugar durante el período de la medida. Con los modernos equipos electrónicos actuales este fenómeno raramente ocurre en los espectrómetros de buena calidad aun con mediciones de varias horas de duración.

Sin embargo, las posibilidades de realización de análisis por activación instrumentales y automáticos con tratamiento de datos por computadores exigen la estabilidad del equipo electrónico durante largos períodos de tiempo. Ello es difícil y siempre ocurren cambios en la calibración del espectrómetro debidos a desplazamientos de la ganancia y del umbral.

La calibración de un espectrómetro relaciona la energía del fotón incidente absorbido por el cristal (como altura del impulso eléctrico) con el número de canal en el que aparece el pico de absorción total o fotopico. Un analizador perfectamente estable mantendría constante el incremento de energía por canal (o ganancia) y la línea base o umbral que es el canal en el cual la recta de calibrado corta a la abscisa, que corresponde al valor cero de la energía ($E_{\gamma} = 0$).

Los espectrómetros más modernos y sofisticados carecen de una estabilidad perfecta, y están sujetos a cambios en la ganancia y en el umbral aunque sea en pequeña escala. Los mejores equipos actuales de alta estabilidad pueden fácilmente presentar desplazamientos de 1-2 canales en el umbral y del $0,5 \infty$ del $\Delta E/\text{canal}$ en la ganancia en un período de una semana. Aunque estos valores parecen pequeños, adquieren una gran importancia en la región de altas energías de los analizadores de 2000 y 4000 canales.

Los esfuerzos para controlar las limitaciones debidas a los desplazamientos de la ganancia y del umbral son de dos tipos distintos: a) control de desplazamientos por métodos instrumentales para mejorar la estabilidad manteniendo en el espectro en una posición fija un pico de referencia y b) corriendo los desplazamientos por ganancia y umbral ocurridos en el espectro mediante programas de análisis de datos generales.

El analizador que se utiliza en el presente trabajo es muy estable, sin embargo está sujeto a cambios en la ganancia y en el umbral aunque sea en pequeña escala. Ésto se demuestra luego de cada contaje, pues luego de cada contaje se realiza una calibración para observar que no hayan desplazamientos en la ganancia y del umbral; se realiza cada vez debido a que los contajes son largos y se podrían observar cambios en la calibración, sin embargo estos cambios no resultaron significativos.

3.6. Muestras para la Espectrometría Gama (24, 50)

Las muestras para la espectrometría gama no necesitan cumplir requisitos especiales, dada la gran penetrabilidad de la radiación gama. Las muestras pueden ser sólidas o líquidas y tener cualquier forma o tamaño. Se recomienda el empleo de una capa de un absorbente de polietileno, u otro material de peso molecular bajo (mico) para eliminar

las partículas beta y reducir el bremsstrahlung. Asimismo, las muestras pueden colocarse muy alejadas del detector o próximas a él, de acuerdo con su intensidad, de modo que el tiempo muerto del analizador esté dentro de límites aceptables.

En general, no deben medirse muestras cuyo tiempo muerto de medida, indicado por el registro el analizador, sea superior a un 30-35%, dado que se producen distorsiones de los picos y desplazamientos en los mismos, como consecuencia del elevado ritmo de medida. El método más simple y sencillo de reducir el tiempo muerto del analizador en una medida es alejar la muestra del detector, disminuyendo la geometría del contaje. Para el equipo utilizado en el trabajo se observa que el tiempo muerto no debe ser mayor de 2% para obtener buenos resultados debido a que el equipo es muy sensible.

El único requisito fundamental que hay que tener en cuenta para poder comparar dos espectros, por ejemplo, el de las muestras desconocidas y el del comparador o comparadores, es que las muestras deben de tener la misma forma, la misma o aproximada densidad, y ser medidas en la misma geometría que los comparadores. Requisito que se toma muy en cuenta para la realización de este trabajo.

3.7. Cálculo del Area del Fotopico ^(24, 50)

En un espectro gama la actividad de un radionúclido presente en el mismo se calcula por referencia a la intensidad de uno o de varios de sus fotopicos, en general y por razones de estadística de contaje se prefiere referirla al fotopico más prominente con respecto al fondo de la región del espectro sobre la que está situado, que no es necesariamente el fotopico de mayor intensidad.

Para expresar la actividad la referencia puede hacerse respecto a alguno de los siguientes parámetros:

- a) la altura neta del fotopico;
- b) el área neta total del mismo;
- c) una fracción conocida del área neta total del fotopico

Existen diversos métodos, propuestos por diversos autores para la evaluación de los fotopicos.

El método más simple y que fue utilizado primitivamente es referir la actividad a la altura neta del fotopico, descontando el fondo continuo sobre el que el fotopico se asienta, mediante una interpolación lineal de las actividades mínimas encontradas a ambos lados del mismo.

Los analizadores multicanales suministran la información en forma digital, de esta forma hace que el área de los fotopicos se pueda calcular mucho más fácilmente y con mucha mayor precisión, precisión que para un método dado, depende esencialmente de la estadística de la medida y del criterio seguido para la delimitación de los bordes del fotopico, y el establecimiento de la línea base del Compton continuo, sobre la que está montado el fotopico.

El problema fundamental es la determinación de la línea base, dado que en el espectro gama de una mezcla de radionúclidos, sólo el fotopico de mayor energía está directamente sobre el eje horizontal de abscisas, mientras que el resto de los fotopicos están superpuestos a otras actividades diversas, pero cuya contribución principal es el Compton continuo de los fotopicos de energía más altas.

Los métodos para trazar la línea de base son puramente subjetivos y pueden resultar errores importantes en la determinación del área neta del fotopico, especialmente en aquellos casos en que el fondo formado por el Compton continuo de los fotopicos de energías más altas representa una fracción importante de la actividad total en esa región del espectro.

En el caso de fotopicos claramente definidos sobre el Compton continuo, aunque las líneas bases pueden dibujarse de forma subjetiva con variaciones considerables, es claro que el error introducido en la determinación del área neta del fotopico es relativamente pequeño y carece de importancia en los cálculos.

Los métodos de evaluación de los fotopicos, a partir de los datos en forma digital, suministrados por los analizadores multicanales, pueden dividirse en dos métodos distintos, a) aquéllos que manipulan los datos digitales directamente, y b) aquéllos que ajustan los datos a una determinada función matemática que representa el fotopico, para determinar el área del fotopico mediante integración de la función.

En este trabajo el método que se usa para la evaluación de los fotopicos es el método del área total. El problema que presenta la aplicación en la práctica del método del área total para la evaluación de los fotopicos, es la determinación de los bordes o canales inicial y final del fotopico.

El criterio a seguir debe ser lo más objetivo y reproducible posible, de tal forma que se pueda seguir el mismo en la determinación de los bordes del fotopico de la muestra y del patrón. En general ello no presenta problemas en el caso de fotopicos simples y prominentes (que es el caso del presente trabajo cuando las mediciones se realizan al mes (o más) de irradiadas las muestras), pero pueden surgir dudas en casos de fotopicos compuestos o próximos a otros fotopicos (que es el caso del trabajo cuando las mediciones de las muestras se realizan antes del mes de irradiadas).

Existen varios criterios para determinar los bordes inicial y final de un fotopico. El criterio que se toma en este trabajo es simple y muy empleado, es por observación de la actividad a ambos lados del fotopico, eligiendo los límites del mismo, en el momento en que empieza a subir o estabilizarse la actividad, y eligiendo como bordes aquellos canales que presentan una actividad mínima. Se necesita aplicar de forma intuitiva

los conocimientos sobre la naturaleza estadística de la medida de la radiactividad.

En particular para el trabajo el área que se obtiene es el área dada por el multicanal, el cual se encuentra programado para cálculo de área total, con la fórmula expuesta en la parte experimental. Sin embargo, para tener la total certeza de la eficiencia del equipo al realizar los cálculos, se realizan éstos también manualmente obteniéndose de esta manera resultados similares. Para el cálculo de línea de base, ésta se determina tomando cuatro puntos finales a cada lado del fotopico, éstos se toman a partir de los puntos designados como canales inicial y final. Estos puntos son promediados de tal forma que se obtiene el valor estimado de la línea de base de la derecha, con los cuatro puntos de la derecha promediados, y el valor de la línea de base de la izquierda, con los cuatro valores de la izquierda promediados. Con estos valores calculados es que se interpolan los puntos de tal forma que se traza la línea de base del fotopico y se obtiene el fondo. De esta forma se obtiene un valor de fondo más probable, pues siempre existe una gran incertidumbre asociada con la línea de fondo (33). Los contajes se realizan hasta que la estadística del fotopico sea lo mejor posible.

3.8. Suavizado de Fotopicos

El suavizado de fotopicos es un tratamiento preliminar de los datos que se basa en la aplicación de métodos estadísticos de suavizado de los espectros para corregir las oscilaciones entre canales debidas a la estadística de contaje, especialmente en canales conteniendo un escaso número de cuentas. (24, 50)

El suavizado de los espectros es una técnica matemática para eliminar la dispersión estadística de los espectros de altura de impulsos. Los

espectros suavizados son muy útiles para la determinación de la energía de los fotopicos, el cálculo de áreas netas y para la identificación de fotopicos.

En el trabajo se observa una dispersión estadística no tan buena como se desearía en los espectros gama debido a que el número de cuentas acumuladas en ciertos canales no se encuentra en proporción con los demás, ello puede ser corregido indudablemente aumentando el tiempo de medición del espectro, pero ello no es siempre posible, por razones económicas, y por tiempo de disponibilidad del equipo.

Así mismo si se suaviza los fotopicos resulta muy útil para calcular la localización y bordes de picos y para identificar además si hay algún pico compuesto.

El suavizado de fotopicos no afecta prácticamente a los fotopicos, mientras que disminuye de forma notable la dispersión en las zonas planas del espectro con menos número de cuentas (el fondo).

Existen varios procedimientos para efectuar el suavizado de los espectros. El más utilizado y recomendado en la literatura es el ajuste de los contenidos de cinco canales consecutivos a un polinomio de tercer orden y por consiguiente éste es el ajuste que se utiliza en este trabajo para hacer el suavizado.

3.9. Desviaciones Estándar

Como etapa final de la identificación y cálculo de áreas de picos en un espectro, está la conversión de la posición del pico en energías y la obtención de los parámetros estadísticos del área neta del pico calculado.

El cálculo de la desviación estándar del área neta del pico está basado en las fluctuaciones estadísticas del conteo, tomando en consideración las variaciones estadísticas del área total del pico y del fondo que se ha sustraído. También, a partir de las variaciones estadísticas del espectro

tratado se calcula el límite de detección de los picos existentes, o que debieran existir en una región determinada del espectro ^(24, 50) (como es el caso de la leche en polvo)

En los casos en los que se lleva a cero la señal de fondo, blanco o ruido, en nuestro instrumento de medición o mediante el método de tratamiento de datos, se tiene alrededor de el valor cero una dispersión que no se puede eliminar. Si esta señal de blanco (fondo, ruido) es muy grande en relación a la señal total, la diferencia podría, en razón de la dispersión estadística de los valores, ser negativa ^(11, 49).

El blanco está definido como la señal resultante de un ejemplo que es idéntico, en principio, al ejemplo de interés, excepto por la sustancia buscada que está ausente (o pequeña comparada con la desviación estándar del fondo). El blanco debe incluir el efecto de especies interferentes ⁽¹¹⁾.

El cálculo de las desviaciones estándar del área neta del pico está basado en la naturaleza estadística de la medida de la radiactividad. Aunque una medida de la radiactividad, libre de errores sistemáticos, viene regida por una distribución de Poisson, "estadística de cuentas de Poisson" ⁽¹¹⁾, es generalmente aceptado que para un número total de sucesos (cuentas) suficientemente elevado esta distribución puede aproximarse por una distribución normal (gausiana) ⁽⁵⁰⁾. Esta teoría sirve de base en algunas referencias para el cálculo de límite de detección, sin embargo, en este trabajo se prefiere utilizar el método de Rogers, por ser un método matemático, estadístico creado especialmente para el cálculo de límite de detección en análisis por activación neutrónica.

El cálculo de las desviaciones estándar de cada resultado es de suma importancia, pues se tiene el valor que se desea calcular y este valor debe ser precedido por un +/- , este +/- representa el grado de confianza con el cual será considerado el resultado. ^(11, 49)

El valor hallado de desviación estándar para el " con " conteniendo pa-

trón de Hg muestra un valor más elevado del esperado por dispersión estadística debido únicamente al flujo neutrónico, este valor es aproximadamente 2 %, lo que hace pensar que hay otros errores sumándose; uno de los errores principales que se encuentra es que al preparar los patrones de mercurio la cantidad de solución de mercurio que se le agrega a la celulosa no la cubre totalmente y esto hace pensar que no haya una total homogeneidad, por lo que al realizar los contajes la geometría no es la misma, y, por consiguiente, causa esta dispersión de resultados observada. Esto se deduce debido a que la desviación estándar en los "canes" que contienen el patrón de Se sí se tiene la dispersión estadística esperada, y la única diferencia que hay entre ambos patrones es que al preparar el patrón de Se, éste sí cubre la celulosa totalmente, pues se agrega más solución de patrón de Se, lográndose de esta manera la geometría deseada. Por consiguiente, para mejorar la desviación estándar en el "can" que contiene los patrones de Hg se debe diluir más la solución que contiene el patrón de Hg, de tal forma que al adicionarlo a la celulosa la cubra totalmente y de esta forma se logre una mejor geometría.

Esta desviación estándar entre las ampollas conteniendo los patrones en el mismo "can" de aluminio se ve compensada al contar éstos con las muestras, de tal forma que se obtienen buenos resultados con desviaciones estándares pequeñas, ya que los resultados son precisos.

En el caso de la corrección por contribución de selenio al fotopico de ^{203}Hg , se tiene una diferencia de áreas, en este caso (de diferencia entre los valores hallados) se traerá aparejada una mayor dispersión de los valores.

Sigma es la medida de confianza en un experimento; si éste es repetido se va a obtener el mismo resultado, con el $\pm n\%$, en toda ocasión. Este porcentaje es el valor desplegado con el área calculada. Un diferente valor de sigma da como resultado un diferente % de error con los mismos datos⁽⁸⁾.

El valor que resulta del cálculo de la desviación estándar del promedio de resultados es el que se considera para expresar los resultados, pues es el que indica la dispersión que hay entre un resultado y otro de la misma muestra y de esta forma da el grado de confianza de la respuesta. Este valor se expresa en el resultado como $\pm (2 \times \text{desviación estándar del promedio de resultados})$ que da un grado de confianza de 95 % a la respuesta⁽³⁴⁾.

Los demás cálculos de desviaciones estándares dan el margen de confianza que tiene cada valor calculado de tal forma que se puede apreciar que el valor calculado para cada muestra con su respectiva desviación estándar se encuentra dentro del valor teórico.

3.10. Medición de Porcentaje de Humedad

El secado de las muestras para hallar el % de humedad es importante y recomendable para poder establecer el peso seco del material analizado, preferiblemente éste se debe hacer con una medida en otra porción de muestra, por separado y de esta forma dar resultados exactos con pesos exactos (secos)⁽³⁹⁾. Por este motivo se realiza éste cálculo en el presente trabajo.

3.11. Descarte de Datos - Test Q⁽²⁶⁾

A todo experimentalista le es familiar la situación en la cual uno (o posiblemente más de uno), de un set de resultados aparece diferente de los demás en el set sin razón. Semejante medición es llamada "fuera de línea". En algunos casos un "fuera de línea" puede ser atribuido a un error humano. Sin embargo, a veces cuando aquellos valores erróneos obvios han sido eliminados o corregidos, valores los cuales parecen que están "fuera de línea" pueden todavía ocurrir. En este caso pueden ser conservados, suceda lo que suceda o pueden encontrarse algunos medios para probar estadísticamente ya sea que deba o no ser rechazados. Obviamente los valores

finales presentados con relación a valor promedio y la desviación estándar va ha depender de que sean o no los " fuera de línea" rechazados. Desde que las discusiones acerca de la precisión y exactitud del método depende de estos valores finales, estos deberían ser siempre hechos de forma evidente sea que los "fuera de línea" hayan sido rechazados y si es así, por qué. Por éste motivo se realiza este test para el presente trabajo. La discusión de errores hasta ahora ha quedado en la asunción de que la distribución de las medidas repetidas son normales o casi normales. Una razón para la presencia de los " fuera de línea " puede ser que esta asunción no es válida.

Idealmente, medidas adicionales deben ser hechas cuando se ha sospechado de un valor obtenido, particularmente si algunos pocos valores han sido obtenidos anteriormente.

Esto puede aclarar el resultado, sea que el valor sospechoso debería ser rechazado o no, y si este es retenido también reduce hasta cierto punto su efecto sobre la media y la desviación estándar.

Es por éste motivo que en el presente trabajo, en el caso del copepodó homogenizado se hacen muestras adicionales, y así de ésta manera se puede descartar los " fuera de línea ", además de mejorar los resultados y sus desviaciones estándares, en precisión y exactitud. También se aplica éste test para las demás muestras, en los resultados que salen de rango para comprobar si se deben de considerar o no.

Cuando las medidas son repetidas sólo unas pocas veces (que es lo común en trabajo analítico), el rechazo de uno de los valores causaría una gran diferencia en la media y la desviación estándar. En particular, la práctica de hacer tres mediciones y rechazar la única que difiere más de las otras dos hechas será evitada. Se puede mostrar que un mayor estimado confiable de la medida es obtenido, en promedio, usando el intermedio de los tres valores antes que la media de los dos valores no rechazados.

3.12. Límite de Detección

Uno de los principales beneficios de usar métodos instrumentales en análisis es que ellos son capaces de detectar y determinar cantidades mucho más pequeñas de análisis que los métodos clásicos. Estos beneficios han sido aprovechados para apreciar la importancia de las concentraciones traza de muchos materiales, por ejemplo en muestras biológicas y ambientales, y así para el desarrollo de muchas técnicas adelantadas en las cuales los bajos límites de detección son el mayor criterio de prósperas aplicaciones. (34)

La noción de límite de detección, aplicada a las técnicas de análisis de trazas, está íntimamente ligada a la necesidad de investigar niveles de concentración cada vez más pequeños, cercanos a cero en muchas ocasiones. Cuando se enfrenta este problema, tanto la técnica en sí misma como el método empleado y, más aún, la propia capacidad del analista para juzgar en forma adecuada sus resultados, son puestos a prueba. (11, 49)

En términos generales, el límite de detección de un análisis puede ser descrito como la concentración que da una señal instrumental significativamente diferente del blanco o señal de fondo. La definición del límite de detección está basada en una apropiada interpretación de la frase "significativamente diferente" (34).

Entonces, el límite de detección es la menor cantidad que puede medirse de un elemento bajo ciertas condiciones. En otras palabras, el límite de detección se define como la concentración de un elemento que produce una señal, en el espectrómetro y bajo determinadas condiciones (3). Por esto se dice que el límite de detección está relacionado (y la relación es de dependencia) con el proceso de medición (11, 49).

Para el cálculo de límite de detección en este trabajo se utiliza el método de Rogers (42), pues este método está basado en el de Currie (11), con la diferencia de que el método de Rogers está calculado, matemática y

estadísticamente, especialmente para el análisis por activación neutrónica instrumental

Este método calcula, al igual que el de Currie, tres parámetros: a) el límite crítico (L_c), que es el nivel de señal neto (responsabilidad instrumental) sobre el cual la señal observada puede ser con seguridad reconocida como detectada, b) el límite de detección (L_D), es el "verdadero" nivel de señal neto en el que se puede esperarse a priori tener una primera detección, y c) el límite de determinación (L_Q), es el nivel al cual la precisión legible puede ser satisfactoria para la determinación cuantitativa⁽¹¹⁾.

3.13 Resultados Obtenidos en Comparación con los Teóricos *

Para poder discutir el grado de confianza que tiene este método con respecto a los resultados teóricos de estas muestras se tiene la Tabla 16 donde se observa los valores teóricos, los valores obtenidos y por último los límites de detección calculados para cada muestra.

Tabla 16 : Contenido de Hg (en ppm) Teórico y Experimental en las Muestras, Límite de Detección Calculado (en ppm) para las Muestras y Contenido de Se (en ppm) Teórico

Muestra	Cantidad de Hg en ppm		Límite de detección en ppm	Cantidad de Se en ppm teórico
	teórico	experimental		
pulpa de pescado				
homogenizado	$0,47 \pm 0,02(\pm 1\sigma)$	$0,556 \pm 0,017$	$0,132 \pm 0,072$	$1,7 \pm 0,3(\pm 1\sigma)$
riñón de caballo	$0,91 \pm 0,08(8,3\%)$	$0,906 \pm 0,075$	$0,143 \pm 0,026$	$4,67 \pm 0,3(6,4\%)$
copepodo homoge-				
nizado	$0,28 \pm 0,01(\pm 1\sigma)$	$0,168 \pm 0,025$	$0,075 \pm 0,016$	$3,0 \pm 0,2(\pm 1\sigma)$
leche en polvo	$[2,2 - 4,2]^*$	no se ve	$0,088 \pm 0,040$	$[26,7 - 41,1]^*$

* este rango de valores se encuentra en ppb.

El gran problema que se observa en las muestras en que no se obtiene los resultados deseados es que la cantidad de selenio presente en estas muestras es alta impidiendo de esta forma la buena medición del mercurio.

Otro problema que se puede observar es que, en el caso de los resultados en que no se obtiene el valor esperado, el límite de detección de estas muestras es alto, haciendo de esta forma que el resultado se vea desviado del valor esperado.

Sin embargo, algo que se puede apreciar de los resultados es que en el caso en que el límite de detección se encuentre bastante por debajo del contenido de Hg, se obtienen resultados buenos, por lo que se puede esperar que, haciendo una separación radioquímica, estos resultados mejoren notoriamente. Sin embargo, si se desea emplear este método para analizar muestras que estén en el orden de 1 ppm, se puede utilizar el método instrumental solamente y con bastante eficiencia, ahorrándose de esta manera la tediosa separación radioquímica muchas veces necesaria para éste tipo de análisis.

Cuando se busca un elemento que se supone en muy bajas concentraciones, no se puede asegurar que esté presente^(11, 49); éste es el caso del análisis de mercurio en la leche en polvo.

Trabajos previos en mercurio con el Laboratorio de la Ciudad de Kansas, muestran que pescado, carne y aves contienen virtualmente el mercurio presente en una dieta. Análisis de interés individual mostró que el pescado contiene la mayor cantidad de mercurio. En un estudio previo a éste, que no incluía pescado, se encontró que el camarón tenía la más alta concentración de mercurio comparado con los otros alimentos comunes⁽⁴⁷⁾.

3.14. Mejoras del Método

Este método se mejora si se hace una separación radioquímica, pues de esta forma se separarían los elementos interferentes y se bajaría el límite de detección de tal forma que se podría detectar mercurio en el orden de ppb. Otra forma de mejorar el método es sometiendo las muestras a un mayor tiempo de irradiación y/o a un mayor flujo neutrónico.

La separación radioquímica que se utilice dependerá de la muestra que se desee analizar y cada experimentador debe fijar el método a seguir según la muestra que desee analizar.

3.15. Ventajas y Desventajas de los Diferentes Métodos (24, 50)

Es indudable que hablando en términos generales las ventajas del análisis por activación en su forma radioquímica son claras:

- a) El equipo necesario para la medida de la actividad es muy simple y barato, al alcance de cualquier laboratorio.
- b) El empleo de la separación radioquímica aumenta la sensibilidad de determinación del elemento, sobre un método instrumental, en igualdad de los restantes parámetros.
- c) La precisión de una determinación con separación radioquímica es generalmente mayor que en una determinación instrumental, dependiendo en gran parte del rendimiento de la separación, que puede corregirse mediante el empleo de portadores isotópicos del elemento a determinar.

Pero los inconvenientes del análisis por activación empleando separaciones son también importantes:

- a) la separación radioquímica consume un tiempo apreciable, elevando en consecuencia el costo del análisis;
- b) la separación radioquímica es frecuentemente tediosa y complicada y requiere personal entrenado para realizarla;

- c) está sujeta con frecuencia a la posibilidad del error humano;
- d) resulta más difícil automatizar los métodos radioquímicos que los métodos puramente instrumentales;
- e) no se pueden dar recetas generales válidas de separaciones radioquímicas, sino que la separación de cada elemento en diferentes matrices es un problema distinto, que necesita ser comprobado previamente; de esta forma antes de realizar un procedimiento radioquímico, hay que dedicar un gran esfuerzo a comprobar los resultados del mismo, bien con el empleo de trazadores radiactivos, bien analizando matrices de composición conocida,
- f) es difícil realizar análisis de grandes series de muestras empleando separaciones radioquímicas, debido a todas estas circunstancias.

Por otra parte, los métodos instrumentales no destructivos presentan las ventajas de rapidez en la obtención de resultados, conservación de la muestra, posibilidad de automatización, y posibilidad de analizar grandes series de muestras de un modo económico. En contrapartida ofrecen los inconvenientes, de que el equipo necesario es muy costoso, la manipulación de los datos complicada con la necesidad de recurrir al empleo de computadoras, y, sobre todo, el que su aplicación no es posible en todos los casos, ya que depende esencialmente de la composición de la muestra, del elemento buscado y del resto de las actividades presentes en la misma. En añadidura, la sensibilidad obtenible con los métodos instrumentales es, en general, más pequeña que con el método radioquímico.

Otra ventaja de los métodos instrumentales sobre los radioquímicos es su posibilidad de determinar simultáneamente varios elementos en una misma muestra, mediante una elección cuidadosa de los tiempos de medida de las distintas actividades, aprovechando la desintegración de los núclidos de período corto, para una vez decaídos realizar la medida de los de período más largo.

Si bien esta posibilidad existe también mediante el empleo de separaciones radioquímicas, su realización significa necesariamente un esquema muy complicado de separaciones, que necesita un tiempo elevado para llevarlo a la práctica, lo que impide realizar determinaciones de elementos productores de isótopos de período corto, que muchas veces son los que proporcionan una mayor sensibilidad

Por todas estas razones, en la actualidad se nota una tendencia creciente al empleo de métodos no destructivos, sobre los métodos de separaciones radioquímicas. Esta tendencia está motivada principalmente por la necesidad actual de obtener los datos de las muestras, lo más completos posibles, en el menor tiempo y a un costo mínimo.

Cuando se enfrenta a un problema de análisis por activación y a la hora de decidir por un método instrumental o radioquímico, la decisión depende de múltiples factores a considerar; especialmente del tipo y de la calidad de la información deseada, y de las características de la matriz. Si el método no destructivo puramente instrumental puede satisfacer las demandas del problema planteado, la respuesta es obvia, dicho tipo de análisis suministrará los datos requeridos de una forma más rápida, más simple, con menos esfuerzo y a menor costo que empleando un método radioquímico.

Ahora bien, si el método instrumental no puede dar la respuesta buscada, por falta de sensibilidad, por interferencias de otras actividades, o por otras causas, el empleo de separaciones radioquímicas se presenta como única alternativa.

En el análisis por activación moderno, empleando separaciones radioquímicas, se nota una tendencia creciente a evitar las tediosas separaciones individuales de elemento por elemento, con complicados esquemas de separación, para combinar de un modo adecuado la técnica de

la espectrometría gama con detectores de germanio - litio de alto poder de resolución, con las separaciones radioquímicas de grupos de elementos, separaciones simples y rápidas, que consumen poco tiempo y trabajo.

El enfoque de este tipo de separaciones puede tener diferente "filosofía":

- a) emplear una simple separación de las altas actividades producidas por los elementos de la matriz, o los componentes menores de las mismas con alta sección eficaz de activación, que impiden o dificultan la medida del resto de las actividades de interés, aumentando de esta forma la sensibilidad de detección del método puramente instrumental;
- b) realizar una separación en grupos de elementos cuando la muestra es demasiado compleja para resolver el espectro gama de la misma en sus componentes individuales; el diseño de una separación en grupos no es fácil, ya que la muestra debe separarse en un número de grupos lo menor posible, cuyas actividades estén bien equilibradas, y además la separación debe ser cuantitativa para evitarse tediosas determinaciones del rendimiento; en general, un esquema de separación sólo es aplicable a un tipo determinado de matriz y necesita ser modificado al variar la matriz, pero es una solución muy eficiente para realizar análisis multielementales en una misma muestra, combinando las ventajas de las separaciones radioquímicas y los métodos puramente instrumentales de una forma racional.

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

El método de análisis por activación neutrónica (AAN) es importante por su bajo límite de detección de mercurio con respecto a los otros métodos de análisis, y es de suma importancia debido a el alto grado de toxicidad del mercurio en bajas cantidades, 0,3 a 0,4 g para adulto normal en el caso de sublimado.

La importancia de este trabajo radica en haber logrado desarrollar un método instrumental para análisis por activación neutrónica de mercurio en muestras del medio ambiente, ubicando éste método de análisis en el contexto nacional, es decir con las condiciones y equipos de trabajo con los que cuenta el país, pues poder determinar la contaminación del mercurio en el medio ambiente es de vital como se puede apreciar en este trabajo debido al alto grado de toxicidad de este elemento.

Se concluye que con el método establecido se obtienen buenos resultados para muestras donde la concentración de mercurio se encuentra en el orden de alrededor de 0,5 ppm o más, o también para muestras donde su límite de detección es por lo menos varias veces más bajo que la cantidad de mercurio presente. En estos casos se puede utilizar la técnica de AAN no destructiva sin ningún problema. Además, un beneficio adicional que se tiene en esta técnica no destructiva de AAN es que, por esperar a que enfríe la muestra 30 días o más luego de la irradiación, se expondrá a menos radiactividad al trabajador.

El AAN instrumental es un método simple para la determinación de mercurio. Sin embargo, su sensibilidad es más baja para el AAN radioquímico y es más dependiente del tipo de muestra y la presencia de elementos interferentes en él.

4.1.1. Pérdidas por Almacenamiento

La manera de minimizar las pérdidas de mercurio de las soluciones diluídas de mercurio debido al tiempo de almacenamiento debe ser almacenándolas el menor tiempo posible. Las soluciones deben ser acidificadas, preferentemente con ácido nítrico, ya que este medio inhibe la alta presión de vapor del mercurio evitando de esta forma su pérdida por evaporación. Los envases de vidrio parecen ser más apropiados que los de polietileno.

4.1.2. Pérdida durante la Irradiación

Los envases de polietileno pueden ser usados solamente para corto tiempo de irradiación (si no está enfriada). Para mayores tiempos deben ser usadas ampollas de cuarzo, ya que este material soporta la formación de alta presión interna producida por la elevación de la temperatura en el sistema debido al bombardeo neutrónico.

4.1.3. Pérdidas en el " Secado por Congelamiento "

Parece ser que las pérdidas de mercurio durante el " secado por congelamiento " son dependientes de la naturaleza de las muestras y de la presencia de grupos funcionales capaces de combinarse con mercurio.

4.1.4. Preparación de Estándares de Mercurio para Irradiación

Se concluye en el presente trabajo que la precipitación del mercurio en solución de HNO_3 diluído a pH1 con la tioacetamida en medio básico (con NH_3), evita pérdidas significativas en el patrón antes, durante y después de la irradiación. Además se concluye que una buena forma de conservar los estándares de mercurio para evitar pérdidas significativas es mantenerlo en una disolución de HNO_3 diluido como se ha realizado en el presente trabajo.

Se concluye que si se irradian estándares húmedos se observan pérdidas de ^{203}Hg significativas, pero no se observan pérdidas en estándares secos, es decir en los precipitados como HgS .

4.1.5. Preparación de Muestras para Irradiación

La preparación de muestras referenciales ambientales para su irradiación neutrónica, en el presente trabajo ha sido satisfactoria, no observándose ninguna pérdida de mercurio en las muestras después de la irradiación.

4.2. Recomendaciones

Debido a la importancia del análisis de mercurio en el medio ambiente se espera que se continúe con esta investigación para establecer los métodos radioquímicos que se pueda utilizar para el análisis, pues como se ha mencionado en el trabajo, éstos dependerán de la muestra que se vá a analizar.

Si se desea realizar el AAN instrumental o método no destructivo se recomienda diluir el patrón de tal forma que se logre un precipitado más homogéneo en toda la celulosa, de esta forma se mejorará la desviación estándar en cada " can " dando buenos resultados.

En el caso de tener concentraciones de mercurio del orden de ppb se recomienda efectuar separaciones radioquímicas para reducir el límite de detección antes de realizar los contajes de las muestras.

Si se desea realizar separación radioquímica, se recomienda congelar las muestras y patrones (ampollas) antes de abrirlas para evitar pérdidas de Hg y esperar 3 días antes de abrirlas para minimizar la exposición personal a la radiación.

Otra forma de optimizar los resultados es sometiendo los " conos " de aluminio a un flujo neutrónico mayor y/o a un mayor tiempo de irradiación.

El límite de detección puede reducirse si se aumenta el peso de la muestra o el tiempo de irradiación. El máximo peso de la muestra, que puede ser irradiado es 3 g y el máximo tiempo de irradiación de 48 horas a una densidad de flujo neutrónico de $5 \times 10^{12} \text{ n.cm}^{-2}.\text{seg}^{-1}$, según se encuentra en la literatura.

6. BIBLIOGRAFIA

1. Adams, F., Dams, R., (1969), Compilation of Gamma-Transition Energies, *J. Radioanal. Chem.* 3, pp 104-25.
2. Al-Jobori, S.M., Itawi, R.K., Saad, A., Shihab, K.M., Jalil, M., Farhan, S.S., (1990), Analysis of Natural Milk and Milk Powder Samples by NAA, *J. Radioanal. Nucl. Chem. Letters* 144, 3, pp 229-39
3. Alvarez, M., Separatos de Curso de Fluorescencia de Rayos X, Perú, I.P.E.N., Enero - Febrero, 1992.
4. Amezúa, M.G. de, Arche, R., Armesto, D., Calleja, G., Pérez, R., Ossorio, A., Polo, L., Seoane, C., Soto, J.L., **Miall - Diccionario de Química, D.W.A. Sharp**, Madrid, Ed. Alhambra, S.A., (1989), p. 374.
5. Amiel, Saadia (Editor), **Studies in Analytical Chemistry 3 - Nondestructive Activation Analysis with Nuclear Reactors and Radioactive Neutron Sources**, Amsterdam - Oxford - New York, Ed. Elsevier Scientific, Publishing Company, (1981), pp. 325-39.
6. Ayres, G.H., **Análisis Químico Cuantitativo**, México - Buenos Aires - Bogotá - São Paulo, Ed. Harper & Row Latinoamericana, (1975), pp. 367.
7. Brandone, A., Borroni, P.A., Genova, N., (1983), Determination of Arsenic, Cadmium and Mercury in Biological Samples by Neutron Activation Analysis, *Radiochem. Radioanal. Letters* 57, 2, pp. 83-94.

8. Canberra Industries, INC., Series 85 MCA (Multichannel Analyzer), Operator's Manual (0286), pp. 17, 38-40.
9. Chatt, A., Dang, H.S., Fong, B.B., Jayawickreme, C.K., McDowell, L.S., Pegg, D.L., (1988), Determination of Trace Elements in Food by Neutron Activation Analysis, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry Articles*, Vol. 124 Nº 1, pp. 65-77.
10. Cortés, E., Gras, N., Muñoz, L., Cassorla, V., (1982), A Study of Some Trace Elements in Infant Foods, *Journal of Radioanalytical Chemistry* Vol. 69 Nº 1-2, pp. 401-15.
11. Currie, Lloyd A., (1968), Limits for Qualitative Detection and Quantitative Determination - Application to Radiochemistry, *Analytical Chemistry*, Vol. 40 Nº 3, March, pp. 586-91.
12. Das, H.A., Van der Sloot, H.A., **Nuclear Activation Techniques in the Life Sciences**, Vienna, Ed. International Atomic Energy Agency, (1972), Nov., pp. 309-20.
13. Drabæk, I., Carlsen, V., Just, L., (1986), Routine Determination of Mercury, Arsenic and Selenium by Radiochemical Neutron Activation Analysis, *J. Radioanal. Nucl. Chem*, Letters 103, 4, pp. 249-60.
14. Fabre, R., Truhaut, R., **Tratado de Toxicología, Tomo 1**, Madrid, Ed. Paraninfo S.A., (1976), pp. 329-30.
15. Fabre, R., Truhaut, R., **Tratado de Toxicología, Tomo 2**, Madrid, Ed. Paraninfo S.A., (1977), pp. 327-55.

16. Goey, J.J.M. de, Houtman, J.P.W., Tjioe, P.S., Koeman, J.H., **Nuclear Activation Techniques in the Life Sciences**, Vienna, Ed. International Atomic Energy Agency, (1972), Nov., pp. 295-307.

17. Goodman Gilman, A., Rall, T.W., Nies, A.S., Taylor, P., **Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica**, Octava Edición, Buenos Aires, Ed. Medica Panamericana S.A., (1991), pp. 1537-8, 1543-6.

18. Greenberg, Robert R., (1980), Simultaneous Determination of Mercury and Cadmium in Biological Materials by Radiochemical Neutron Activation Analysis, *Analytical Chemistry*, Vol. 52 Nº4, April, pp. 676-9.

19. Greenberg, Robert R., (1986), Elemental Characterization of the National Bureau of Standards Milk Powder Standard Reference Material by Instrumental and Radiochemical Neutron Activation Analysis, *Anal. Chem.*, Vol.58 Nº 12, pp.2511-6.

20. Grimanis, A. P., Pertessis-Kleis, M., Simultaneous Determination of Mercury and Selenium in Biological Materials by Radiochemical Neutron Activation Analysis, *The document Supply Centre of the British Library - leading world resource for scientific, technical and medical knowledge*, pp. 843-9.

21. Guinn, V.P., Hoste, J., Kirkbright, G.F., Hoos, W.J., Fassel, V.A., Morrison, G.H., Katsanos, A.A., Neeb, R., **Elemental Analysis of Biological Materials-Current Problems and Techniques with Special Reference to Trace Elements**, **Technical Reports Series Nº 197**, Vienna, Ed. International Atomic Energy Agency, (1980), February, pp. 105-299.

22. Haas, H. F., Krivan, V., (1986), Ein Trennverfahren zur Bestimmung von Ag, Cd, Hg und Zn in biologischem Material durch radiochemische Neutronen-aktivierungsanalyse, *Presemus Z. Anal. Chem.*, 324, pp. 13-8.
23. Hawley, Gessner G., **Diccionario de Química y de Productos Químicos**, Barcelona, Ed. Omega S.A., (1975), pp. 550-5.
24. IAEA - TECDOC - 564, ISSN 1011 - 4289, **Practical Aspects of Operating a Neutron Activation Analysis Laboratory**, Vienna, Ed. International Atomic Energy Agency (IAEA), (July - 1990).
25. Iovtchev, M., Grigorov, T., Apostolov, D., (1988), Determination of Mercury content in Milk Powder, *IWSMF-11126*, pp.63-4.
26. Iqbal, M. Zafar, Qadir, M. Abdul, (1990), Determination of Hg, Co, Cr, Zn and Fe in Various Plant leaves using neutron-activation analysis, *J Radioanal. Nucl. Chem.*, Letters 144, 1, pp. 35-45.
27. Iyengar, Venkatesh, (1987), Dietary Collection Procedures, *Clinical Nutrition*, Vol. 6 № 4, July/Aug., pp. 147-53.
28. Iyengar, Venkatesh, (1987), Dietary Intake Studies of Nutrients and Selected Toxic Elements in Human Studies: Analytical Approaches, *Clinical Nutrition*, Vol. 6 № 3, May/June, pp. 105-17.
29. Kirk, R., Othmer, D., **Enciclopedia de Tecnología Química, Tomo 10**, Mexico, D. F., Ed. Uteha (Union Tipográfica Editorial Hispano - Americana), (1962), pp. 657-86.

30. Manahan, Stanley E., **Toxicological Chemistry (a Guide to toxic substances in Chemistry)**, Michigan, Ed. Lewis Publishers, Inc., (1989), pp. 103-4, 133-4.
31. May, S., Peccot, D., (1979), Dosage de Traces d'éléments Toxiques (As, Cd, Hg, Sb, Se) dans les Protéines Synthétiques, par Radioactivation Neutronique, *Analysis*, Vol. 7 Nº 3, pp. 133-7.
32. Merck, E., **Metodos Complexométricos de Valoración con Titriplex**, Darmstadt (R.F. de Alemania), pp. 49-50.
33. Meyer, P.L., **Probabilidad y Aplicaciones Estadísticas**, Massachusetts, E.U.A., Ed. Addison - Wesley Publishing Company, (1970), pp. 138-43, 290-319.
34. Miller, J.C., Miller, J.N., **Statistics for Analytical Chemistry**, Chichester - England, Ed. Ellis Horwood Limited, (1988), pp. 63-4, 92, 115-7.
35. Mode, E.B., **Elementos de Probabilidad y Estadístico**, Londres, Ed. Mc Graw - Hill Book Company, (1940), pp. 75-92, 201-22.
36. Moody, John R., Greenberg, Robert R., Pratt, Kenneth W., Rains, Theodore C., (1988), Recommended Inorganic Chemicals for Calibration, *Analytical Chemistry*, Vol. 60 Nº 21, November 1, pp. 1203A-18A.
37. Muramatsu, Y., Ogris, R., Reichel, F., Parr, R.M., (1988), Simple Destructive Neutron Activation Analysis of Mercury and Selenium in Biological Materials using Activated Charcoal, *J. Radioanal. Nucl. Chem. Articles*, Vol. 125 Nº 1, Nov., pp.175-81.

38. Parr, R.M., (1987), Applications of Nuclear Analytical Techniques in Human Nutrition Research as Exemplified by Research Programmes of the International Atomic Energy Agency, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, Articles*, Vol. 110 №2, pp.491-502.
39. Parr, R.M., (1988), On the Role of Neutron Activation Analysis in the certification of a New Reference Material for Trace-element Studies, Mixed Human Diet, H-9, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, Article*, Vol. 123 № 1, pp. 259-71.
40. Pietra, R., Sabbioni, E., Gallorini, M., Orvini, E., (1986), Environmental, Toxicological and Biomedical Research on Trace Metals: Radiochemical Separations for Neutron Activation Analysis, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, Articles*, Vol. 102 № 1, pp. 69-98.
41. Plunkett, E.R., **Enciclopedia de la Química Industrial, Tomo 12**, Bilbao, Ed. Urmo S.A., (1974), pp. 360-5.
42. Rogers, V.C., (1970), Detection Limits for Gamma-Ray Spectral Analysis, *Analytical Chemistry*, Vol. 42 № 7, June, pp. 807-8.
43. Rook, Harry L., Gills, E., La Fleur, Philip D., (1972), Method for Determination of Mercury in Biological Materials by Neutron Activation Analysis, *Analytical Chemistry*, Vol. 44 № 7, June, pp.1114-7.
44. Samudralwar, D.L., Garg, A.N., (1990), Simultaneous Determination of Hg and Cd by Radiochemical Solvent Extraction using Thionalide (Preprint No - RA - 28), *Radiochemistry and Radiation Chemistry Symposium Bombay (India) 1988, Sanar - INIS*, Vol. 20 № 21, pp. 8361-2.

45. Sinderman, Jorge E., **Instrumentación Nuclear**, Buenos Aires, sin editor, (1990), Mayo.
46. Takeuchi, T., Shinogi, M., Mori, I., (1979), Volatilization Losses of Mercury in Neutron Activation, *Journal of Radioanalytical Chemistry*, Vol. 53 Nº1-2, pp. 81-8.
47. Tanner, J. T., Friedman, M. H., Neutron Activation Analysis for Trace Elements in Food, pp. 344-51.
48. Teherani, D.K., (1987), Trace Elements Analysis in Rice, *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, Letters 117, 3, pp. 133-43.
49. Thompson, M., Howarth, R.J., (1980), The Frequency Distribution of Analytical Error, *Analyst* 105, pp. 1188.
50. Travesi, Antonio, **Análisis por Activación Neutrónica - Teoría, Práctica y Aplicaciones**, Madrid, Servicio de Publicaciones Científicas de la Junta de Energía Nuclear, (1975).
51. Vogel, Arthur I., **Química Analítica Cuantitativa, Volumen I**, Buenos Aires, Ed. Kapelusz, (1960), pp. 355-56, 374, 504, 588-91.
52. Zmijewska, W., (1977), Activation Analysis of Mercury in Environmental Samples, *Journal of Radioanalytical Chemistry*, Vol.35, pp. 389-418.
53. Procedimento para análise de Hg, Sb, Se e As utilizando resina aniônica forte (Dowex 2 - X8) e trocador Inorgânico (TDO), Brasil, folleto.

54. Procedimento para análise de Hg, As, Se, e Sb utilizando trocador inorgânico TDO e extração com Ni(DDC)₂, Brasil, folheto.