



REPUBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA
UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
LABORATORIO DE QUÍMICA ANALÍTICA



**LAS ALGAS *Sargassum sp.* y *Ulva fasciata* COMO BIOINDICADORES
DE CONTAMINACIÓN MERCURIAL EN AGUAS MARINAS**

(Trabajo de grado para optar al título de licenciadas en Bioanálisis)

Autoras:

Carrero Q. Chirley V.

Rincón C. Andrea I.

Tutor: MSc. Rojas Edyleiba.

Mérida, Octubre de 2016

AGRADECIMIENTO

Primeramente gracias a DIOS por ser nuestro guía y mayor fortaleza para lograr vencer todos los obstáculos que se nos presentaron a lo largo del camino, por iluminar siempre nuestra mente y jamás abandonarnos, permitiéndonos llegar hasta este punto que un comienzo parecía imposible.

A nuestros familiares por ser nuestro mayor apoyo y motor para seguir adelante, por las palabras correctas en los momentos en que creíamos desvanecer, por confiar siempre en nosotras a ojos cerrados y tener la certeza de que este momento tarde o temprano llegaría.

A nuestra tutora MSc. Edyleiba Rojas por confiar en nosotras, aceptar la responsabilidad y abrirnos una ventana aun cuando las puertas parecían estar cerradas, gracias por iluminarnos, por las enseñanzas recibidas, el apoyo, cariño brindado, ayudarnos a lograr la culminación de este trabajo de grado a pesar de las dificultades administrativas y la escasez de reactivos.

Al profesor Pablo Djabayan pionero de la investigación y facilitador de las muestras para la realización de la parte experimental.

Al profesor Juan Carlos Yopez por ser esa mano amiga que nos apoyó en aquellas adversidades presentadas en el camino.

A los profesores: Carlos Rondón, Gladys Becerra, Jacinto Rincón, Kaylin Armas y Orlando lobo, por la donación de los reactivos necesarios.

A nuestros grandes amigos por su incondicional amistad, porque a pesar de los momentos difíciles siempre estuvieron allí para darnos su apoyo y palabras de aliento para seguir adelante, por aceptar esas invitaciones de última hora necesarias para salir de la rutina y despejar la mente.

DEDICATORIA

En primer lugar a Dios por ser nuestro fiel compañero en este dificultoso camino y permitirnos llegar hasta este momento.

A nuestra familia por las enseñanzas, los valores inculcados, por motivarnos y ayudarnos hasta donde sus alcances lo permitían.

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
INDICE DE TABLAS	vii
INDICE DE FIGURAS	viii
INDICE DE ESQUEMAS	viii
INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I. EL PROBLEMA	
Planteamiento del Problema	3
Justificación de la Investigación	6
Objetivos de la Investigación	
<i>Objetivo General</i>	7
<i>Objetivos Específicos</i>	7
Alcances de la Investigación	8
Limitación de la Investigación	8
CAPITULO II. MARCO TEÓRICO	
Trabajos Previos	9
Antecedentes Históricos	14
Antecedentes Teóricos	19
Definición de Términos	34
Operacionalización de las Variables	37
Sistema de Hipótesis	38
CAPITULO III. MARCO METODOLÓGICO	
Tipo de Investigación	39
Diseño de la Investigación	39
Población y Muestra	40
Sistema de Variables	40
Instrumento de recolección de Datos	40
Procedimiento o Metodología	40

Sistema Estadístico	49
CAPITULO IV. PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS	
Resultados	51
CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	
Conclusiones	62
Recomendaciones	64
BIBLIOHEMEROGRAFÍA	65
ANEXOS	72

www.bdigital.ula.ve

INDICE DE TABLAS

Nº	Pág.
1. Concentraciones ambientales permisibles de sustancias químicas.	34
2. Operacionalización de las variables.	37
3. Condiciones óptimas de operación.	54
4. Prueba de significancia.	56
5. Características analíticas para la determinación de mercurio en patrones acuosos.	57
6. Porcentaje de recuperación para la determinación de mercurio en algas marinas.	58
7. Respuesta instrumental de mercurio en las muestras.	60
8. Concentración de mercurio en algas marinas.	60

www.bdigital.ula.ve

INDICE DE FIGURAS

Nº	Pág.
1. <i>Sargassum sp.</i> (López, 2011).	26
2. <i>Sargassum sp.</i> (Carrero & Rincón, 2016).	26
3. <i>Ulva fasciata</i> (Guiry & Guiry, 2016).	29
4. <i>Ulva fasciata</i> (Carrero & Rincón, 2016).	30
5. Ubicación satelital San Juan de Los Cayos - Complejo Paraguaná.	43
6. Ubicación satelital Parque Nacional Morrocoy - PEQUIVEN S.A.	44
7. Sistema de flujo continuo.	47
8. Separador de fases.	47
9. Efecto de la concentración de ácido clorhídrico sobre la señal analítica de Hg para un pool de muestras de algas.	52
10. Efecto de la concentración de borohidruro de sodio sobre la señal analítica de Hg para un pool de muestras de algas.	53
11. Curva de calibración con patrones acuosos y adición de estándar para mercurio en un pool de muestras (masa húmeda).	55
12. Curva de calibración con patrones acuosos y adición de estándar para mercurio en un pool de muestras (masa seca).	56
13. Comparación de niveles de mercurio encontrados en algas en estudio.	61

INDICE DE ESQUEMAS

Nº	Pág.
1. Camino metodológico.	50

www.bdigital.ula.ve



REPUBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA
UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS



LAS ALGAS *Sargassum sp.* y *Ulva fasciata* COMO BIOINDICADORES DE CONTAMINACIÓN MERCURIAL EN AGUAS MARINAS

(Trabajo de grado para optar al título de licenciadas en Bioanálisis)

Autor: Carrero Q. Chirley V.

Rincón C. Andrea I.

Tutor: MSc. Rojas Edyleiba.

Fecha: Octubre, 2016.

Resumen

La presencia de mercurio en algas representa un riesgo para la salud pública y el ambiente. El objetivo de esta investigación fue explorar los niveles de mercurio en las algas *Sargassum sp.* y *Ulva fasciata* colectadas en el Parque Nacional Morrocoy y la Costa San Juan de Los Cayos en mayo 2015. La investigación es de tipo exploratoria, de campo, univariante y transversal. La muestra estuvo representada por 0,2 gramos de masa seca y 0,5 gramos de masa húmeda. La determinación se realizó por medio de la técnica Espectroscopia de Absorción Atómica en Vapor Frío; para la cual fue necesario realizar un previo tratamiento y digestión de la muestra. Se trabajaron por triplicado con ensayos de recuperación y optimización de los reactivos de trabajo. Se emplearon soluciones patrones de mercurio para determinar la concentración de las muestras. El análisis de los resultados se llevó a cabo mediante el paquete estadístico Originlab versión 7.0. Los valores obtenidos corresponden a: 0,12 ug/g de Hg en *U. fasciata* masa húmeda, 0,14 ug/g en *Sargassum sp* masa húmeda. 0,45 ug/g en *U. fasciata* masa seca y 0,5 ug/g de *Sargassum sp* en masa seca. Las condiciones óptimas de los reactivos de trabajo fueron 0,5 % m/v de borohidruro de sodio y 1 mol/L de ácido clorhídrico. Demostrando así que los resultados obtenidos presentan confiabilidad. Sin embargo se recomienda realizar un muestreo amplio en investigaciones futuras de tal forma que los resultados obtenidos se puedan extrapolar en dicha zona.

Palabras Claves: Mercurio, Algas, Espectroscopia, Vapor Frío.

INTRODUCCIÓN

El mercurio (Hg), es un elemento metálico, de color plateado que permanece en estado líquido a temperatura ambiente. Es conocido que el mercurio y sus compuestos son sustancias muy tóxicas con un alto poder contaminante. Comúnmente se encuentra en la naturaleza como mercurio inorgánico Hg^{2+} , mercurio orgánico (metilmercurio) y mercurio metálico o elemental (forma pura). Algunos fenómenos naturales (actividad volcánica, meteorización de rocas) y actividades humanas (minería, utilización, procesamiento de productos combustibles) pueden liberar mercurio al medio ambiente (Kirk y Othmer 2004; Rojas, 2012).

Una vez liberado el mercurio se distribuye ampliamente a nivel de aire, suelos y agua. En el agua alcanza rápidamente la biota marina, tales como: invertebrados, peces y algas. Por acción bacteriana es metilado y transformado en metilmercurio (CH_3Hg^+) forma química ingerida por los peces con subsecuente ingesta indirecta por los seres humanos y consecuencias negativas sobre la salud pública. Bajo esta forma el mercurio es absorbido con facilidad a través de la piel y el aparato respiratorio, acumulándose principalmente en riñones. Su relativa liposolubilidad le permite atravesar la barrera hematoencefálica (Rojas, 2012).

Las algas son organismos vegetales fundamentalmente acuáticos que viven tanto en agua dulce como en agua de mar. Se distinguen tres grupos: verdes (Chlorophyta), las rojas (Rhodophyta) y las pardas (Phaeophyta). Con la finalidad de explorar los niveles de mercurio en las aguas del Parque Nacional Morrocoy y la Costa San Juan de Los Cayos serán sujeto de estudio *Ulva fasciata* (alga verde) y *Sargassum sp* (alga parda). Calificadas como bioindicadores de contaminación por metales pesados, en ecosistemas acuáticos mediante la bioacumulación de elementos en el medio donde crecen o se cultivan (Álvarez & Peña, 2004).

De este modo, bajo la técnica Espectroscopia de Absorción Atómica en Vapor Frío se estableció la presencia de mercurio. Este se trató de un sistema de flujo continuo que hizo posible la determinación a nivel de las trazas en medio ácido. Fue empleado borohidruro de sodio (NaBH_4), debido a su capacidad como agente reductor (Rojas, 2012).

La siguiente investigación está estructurada en cinco capítulos los cuales presentan una diversidad de elementos, tales como:

Capítulo I: EL PROBLEMA, Planteamiento del Problema, Justificación e Importancia de la Investigación, Objetivos de la Investigación, Alcances y Limitaciones de la Investigación.

Capítulo II: MARCO TEORICO, Trabajos Previos, Antecedentes Históricos, Antecedentes Teóricos, Definición de Términos, Operacionalización de las Variables, Sistema de Hipótesis.

Capítulo III: MARCO METODOLOGICO, Tipo de Investigación, Diseño de la Investigación, Población y Muestra, Sistema de Variables, Instrumento de Recolección de Datos, Procedimiento o Metodología, Sistema Estadístico.

Capítulo IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS, Resultados.

Capítulo V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES, Conclusiones, Recomendaciones, Bibliohemerografía y Anexos.

El objetivo general de la investigación fue explorar los niveles de mercurio en las algas *Sargassum sp* y *Ulva fasciata* colectadas en el Parque Nacional Morrocoy y la Costa San Juan de Los Cayos en Mayo 2015.

CAPITULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del Problema

Se ha reconocido mundialmente que la contaminación ambiental conlleva al desequilibrio de los ecosistemas existentes en el planeta, ya sea en el aire, suelo o agua. A nivel de las aguas la contaminación ha tomado gran importancia debido a los problemas que ocasiona en los sistemas vivos que en ellas habitan, tales como: crustáceos, arrecifes de coral, peces y algas (Martínez, 2004).

En este sentido la Convención de las Naciones Unidas sobre el Derecho del Mar (1982) define la contaminación del medio marino como la introducción por parte del hombre, directa o indirecta de sustancias o energía que puede producir efectos nocivos, daños a los recursos vivos, obstrucción a las actividades marítimas, incluidas la pesca, y otros usos legítimos del mar.

Por esta razón un alto número de agencias ambientales en el mundo emplean métodos para la evaluación del agua, basados en la utilización de comunidades biológicas. Los sistemas vivos primordialmente empleados son: bacterias, protozoos, macro-invertebrados, peces y algas. Estas pueden vivir tanto en agua dulce como salada. Estudios de laboratorio y de campo han cuantificado la respuesta de grupos de algas a una variedad de compuestos químicos como metales pesados (Baker & Walter, 2000; Barbout, 1999; Walsh, 1972).

Dada la capacidad bioacumulativa de elementos presentes en el medio donde crecen, en las algas llegan a constituir entre el 5 % y el 20 % de su materia seca. Demostrando que la concentración en las mismas refleja la

concentración de estos en el ambiente. De manera que existe una relación directamente proporcional entre la concentración de diversos compuestos en el agua y la subsecuente acumulación (Álvarez & Peña, 2004).

Se puede decir entonces, que las alteraciones en los cuerpos de agua se transmiten a los organismos presentes en los mismos, produciendo modificaciones de todo tipo. Cada vez que se vierten a un curso de agua, diferentes contaminantes, pueden ocurrir dos cosas: que el ecosistema asimile el vertido enriqueciendo la biocenosis, o que el vertido sea superior a la capacidad de asimilación apareciendo perturbaciones (Martínez, 2004).

Los vertidos industriales poseen compuestos orgánicos, inorgánicos y algunos pueden ser tóxicos como el Arsénico (As), Cianuro (Cn), Flúor (F), y particularmente metales pesados. Estos constituyen un grupo aproximado de 40 elementos con elevado peso atómico. Una característica distintiva de los metales pesados es que tienen efectos tóxicos sobre las células, alterando su funcionamiento. Los metales pesados que encabezan la lista de toxicidad son: plomo (Pb), cadmio (Cd) y mercurio (Hg) para los cuales hasta el momento no se conoce función biológica alguna (Volesky, 1994).

El mercurio es altamente tóxico para la fauna acuática y por ende para el hombre, debido a la capacidad de acumularse en el organismo hasta alcanzar concentraciones necesarias para ser letales. En la naturaleza se encuentra bajo tres formas: la orgánica, inorgánica y elemental (vapores de mercurio); el mercurio elemental constituye la fuente de riesgo más frecuente en ambientes laborales, mientras que el mercurio orgánico suele conseguirse unido a grupos metilo formando metilmercurio, compuesto de mayor relevancia y toxicidad en el ecosistema acuático (Martínez, 2004).

En Venezuela, desde el año 1974 se conoce que la industria petroquímica ha contaminado de mercurio un área del noroccidente del país conocida como Golfo Triste donde se encuentra una de las sedes de la petroquímica de Venezuela S.A. (PEQUIVEN). En Morón Estado Falcón se encuentra ubicada la planta de cloro-soda que producía para los años 70

hidróxido de sodio y ácido clorhídrico, para ello se utilizaba un proceso electrolítico con electrodos de mercurio metálico. Las descargas de mercurio se produjeron durante el mantenimiento y limpieza de las celdas electrolíticas. Debido a los graves problemas ambientales ocasionados, actualmente no se usa este tipo de proceso industrial pero todavía persiste la contaminación ambiental generada. De igual forma el Estado Falcón, hacia el oriente limita con el Mar Caribe donde se localiza la península de Paraguaná, allí se encuentra el centro de refinación de Paraguaná producto de la fusión de las dos mayores refinerías, el complejo de Amuay y Cardón. Esta industria se suma a la lista de contaminantes, cuyos efluentes poseen alto contenido de compuestos químicos (García, 2010; Martínez, 2004).

Es así, como en este trabajo de investigación con la finalidad de explorar los niveles de mercurio se emplearon dos grupos de algas. La verde (*Ulva fasciata*) y la parda (*Sargassum sp*), como matriz para realizar la cuantificación. Debido a que las mismas presentan características ideales de bioacumulación, y en consecuencia servirán como bioindicadores de contaminación marina en la Costa de San Juan de Los Cayos y en el Parque Nacional Morrocoy en el Estado Falcón – Venezuela. La cuantificación de mercurio se llevó a cabo empleando la técnica de Vapor Frío con detección por Espectroscopia de Absorción Atómica, la cual es extensivamente utilizada por poseer ventajas de sensibilidad y exactitud.

Considerando las anteriores formulaciones las autoras establecen la siguiente interrogación:

¿Cuáles son los niveles de mercurio en las algas *Sargassum sp* y *Ulva fasciata* colectadas en el Parque Nacional Morrocoy y la Costa San Juan de Los Cayos en mayo de 2015?

Justificación de la Investigación

El agua químicamente pura no es favorable para el desarrollo de la vida. Tiene un grado de pureza variable, por lo tanto, no se puede hablar de buena o mala calidad en abstracto. De acuerdo al uso - beneficio, presenta un conjunto de características fisicoquímicas y bacteriológicas en estado natural (Seoáñez, 1999).

En determinadas circunstancias por causas humanas el medio marino se puede convertir en un ambiente hostil. Muchos seres vivos, individuos y especies desaparecen de ciertas zonas, disminuyen poblaciones o incluso desaparece la vida en lugares puntuales de extrema contaminación (Seoáñez, 2000).

El mercurio es uno de los contaminantes más severos del ambiente. Altamente tóxico, con gran capacidad para ser incorporado por la biota, especialmente en sus formas orgánicas y subsecuente acumulación dentro de la cadena trófica. La transformación del mercurio elemental en su forma orgánica en agua, induce a su dispersión y consecuente contaminación. Este es el camino más peligroso por el cual el mercurio ingresa a la cadena trófica (Graeme & Pollack, 1998).

Debido a los problemas que ocasiona la contaminación con mercurio, las leyes que regulan la cantidad máxima permitida que pueden contener las aguas, establecen los siguientes niveles: concentraciones inferiores a 1ug/L en aguas potables, mientras que en aguas contaminadas, se pueden encontrar concentraciones mayores (Cazón, 2012).

El empleo de algas para determinación de metales pesados. Se consideró una biotecnología rentable, de gran aplicabilidad para el tratamiento de grandes volúmenes de agua. Destacando por su rentabilidad, eficacia, bajo costo y sencillez en comparación con análisis químicos de toxicidad. Estos

bioindicadores permitieron establecer la presencia de mercurio. De tal forma, que a partir de los resultados obtenidos se originan medidas ecológicas (Cuizano & Navarro, 2007).

Así entonces, la detección de mercurio en las algas estudiadas manifestó que los usuarios de estos balnearios están expuestos a contaminación. Bien sea por la ingesta accidental directa del agua o por la ingesta de peces que habitan en este lugar.

Objetivos de la Investigación

Objetivo General

Explorar los niveles de mercurio en las algas Sargassum sp y Ulva fasciata colectadas en el Parque Nacional Morrocoy y la Costa San Juan de Los Cayos en mayo de 2015.

Objetivos Específicos

- ✓ *Indagar sobre la existencia de algas Sargassum sp y Ulva fasciata en el Parque Nacional Morrocoy y la Costa San Juan de Los Cayos.*
- ✓ *Recolectar mediante buceo autónomo muestras al azar de algas.*
- ✓ *Optimizar condiciones de trabajo en el laboratorio.*
- ✓ *Detectar los niveles de mercurio mediante la técnica Espectroscopia de Absorción Atómica con Generación de Vapor Frío.*
- ✓ *Reconocer la efectividad de las algas marinas Sargassum sp y Ulva fasciata como bioindicadores de contaminación mercurial.*

Alcances de la Investigación

El actual proyecto de investigación busco explorar los niveles de mercurio en las algas *Ulva fasciata* y *Sargassum sp.* colectadas en el Parque Nacional Morrocoy y la Costa San Juan de Los Cayos. De tal forma que este estudio sirve de base para posteriores investigaciones; permitiendo alertar a la comunidad que hace uso de estas aguas de los riesgos a los cuales se exponen y el impacto que ocasionara en su salud. Sin olvidar la pérdida del valor recreativo de las mismas y el daño al medio ambiente.

Limitaciones de la Investigación

En el desarrollo de la investigación se presentaron las siguientes limitaciones: variaciones en el nivel del mar, esto influyo en la recolección de muestras, debido a que solo se podía acceder en marea baja. Cantidad insuficiente de muestras y puntos de muestreo que no permitieron extrapolar los resultados obtenidos. Escasez de reactivos requeridos para realización de la parte experimental.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos Previos

Jaramillo F, Zapata O & Marulanda L. (2015), Fitorremediación de mercurio a partir de *Elodea sp.* Objetivo: Evaluar la capacidad de biorremediación del ión mercurio por la planta macrofita *Elodea sp.* **Metodología:** En elermeyers se prepararon 100 mL de las concentraciones 6,25 mg/mL; 1,55 mg/mL; 0,39 mg/mL y control a los cuales se les trató con la planta. Cada concentración y control se preparó por triplicado, se tomaron las plantas de cada reactor, se lavaron con agua destilada, con una solución de 0,1 % de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), y de nuevo con agua, las plantas se secaron a 60 °C por 4 horas, para obtener 58 g de planta seca, la planta se puso a digestión por 30 minutos con 10 mL de agua y 7 mL de ácido nítrico (HNO₃) concentrado, se filtraron cada una de las plantas y se realizó la lectura de absorbancia a 253 nm en el espectrofotómetro (Genesys 10 uv - vis, thermo scientific) tomando como blanco el control. **Resultados:** A concentraciones de 0,39 mg/mL el porcentaje de absorción fue 8,4 % y a 6,25 mg/mL fue absorbido el 9,2 %, a la concentración de 1,55 mg/mL la planta absorbe en mayor proporción. **Conclusión:** El mecanismo usado por la planta para remediar mercurio es la absorción y adsorción. La planta adsorbe el metal dependiendo de la concentración. A concentraciones muy altas se presenta toxicidad, pero el mecanismo de adsorción se muestra en estas condiciones.

Romero G & Meléndez W. (2013), Caracterización geoquímica de los suelos asociados a distintas especies de mangle de la zona oeste del Golfo de Coro y noreste de la Península de Paraguaná, estado Falcón.

Objetivo: Caracterizar geoquímicamente los suelos de la zona oeste del Golfo de Coro y noreste de la Península de Paraguaná. **Metodología:** Se ubicaron 5 puntos de muestreo en los manglares de Punta Caimán, 8 puntos de muestreo en Boca de Caño. Ambos en el Estado Falcón para la determinación de los elementos hierro (Fe), aluminio (Al), níquel (Ni), manganeso (Mn), cobre (Cu), plomo (Pb), zinc (Zn), cromo (Cr), cadmio (Cd), calcio (Ca), fósforo (P) y mercurio (Hg). Se realizó una extracción secuencial con ácido clorhídrico (HCl) 1 mol/L y ácido nítrico (HNO₃) concentrado a todas las muestras de suelo. Las soluciones obtenidas fueron analizadas por Espectroscopia de Emisión Atómica acoplada a Plasma (EEA-ICP). Para determinar la concentración de mercurio fue empleado un equipo analizador directo (DMA-80). **Resultados:** Los suelos de manglar de Punta Caimán presentan mayores concentraciones de Al, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn, Ca, P y Hg que los suelos de Boca de Caño. La mayor concentración de los nutrientes, micronutrientes y metales pesados fueron encontrados en Punta Caimán, debido probablemente a un aporte antrópico. **Conclusión:** En los suelos asociados a los manglares de la zona de la Laguna de Boca de Caño existe mayor acumulación de materia orgánica en comparación con los suelos de Punta Caimán, debido a que en este último existe una remoción de materia orgánica por efecto de las mareas. Además, en los suelos de Punta Caimán parece existir una mineralización de la materia orgánica por actividad de microorganismos, fijación del nitrógeno. Concentraciones de Al, Fe, Mn, Ni, Cu, Cr, Zn, Pb, Ca, Cd y Hg son mayores en los suelos de manglar de Punta Caimán que en los suelos de manglar de Boca de Caño.

Martínez M & Velásquez M. (2013), Distribución de mercurio en los sedimentos superficiales del Río Mitare, Estado Falcón. Objetivo:

Determinar la distribución de mercurio en los sedimentos superficiales del Río Mitare estado Falcón. **Metodología:** Se tomaron un total de 30 muestras de distintos sub - ambientes sedimentarios del delta del río Mitare. Las muestras fueron transportadas al laboratorio en bolsas plásticas individuales. Se secaron y tamizaron para recoger 62,5 µm. Esta fracción se dividió a su vez en tres alícuotas: la primera se llevó a solución parcial a través del método de extracción secuencial (en dos etapas: HCl 1 mol/L y HNO₃ concentrado), la segunda se llevó a solución total por fusión alcalina, la tercera se utilizó para los análisis de mercurio total en medio sólido empleando el equipo análisis mecánico dinámico (DMA – 80) y mineralógico por Difracción de Rayos X (DRX). **Resultados:** Se reporta una concentración de mercurio de 33 ± 11 µg/Kg.

Este material representa la composición general de las fuentes de sedimentos finos en esta cuenca. Se obtiene que el sistema estudiado está enriquecido en este elemento, lo cual indica que la zona costera del Estado Falcón presenta una amplia variabilidad desde el punto de vista de la distribución de mercurio (Hg). Aquellos ambientes que se ubican hacia el sur de la Península de Paraguaná se encuentran enriquecidos en este elemento.

Conclusiones: Los procesos fluviales y eólicos son los principales protagonistas en la distribución de concentraciones elevadas de mercurio. Lo cual conlleva a pensar que el sistema está siendo influenciado en cierta medida, por las actividades industriales - petroquímicas que se desarrollan en el Estado Falcón.

Cogua et al. (2012), Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Biología y Centro de Ciencias del Mar. Concentración de mercurio total y metilmercurio en sedimento y seston de la Bahía de Cartagena, caribe Colombiano. Metodología: En este estudio se determinó metilmercurio y

mercurio total en sedimentos superficiales y seston, durante cinco muestreos (febrero, abril, junio, julio y octubre), en cinco estaciones (Zona Industrial, Frente al Dique, Centro, Boca Chica y Tierra Bomba). Se recolectaron tres muestras divididas en tres partes iguales. Para la determinación se utilizó un análisis por Pirólisis a 800 °C, seguido de Absorción Atómica a través de un analizador de mercurio lumex – ra - 915 con pirolizador pyro - 915. El mercurio vaporizado fue cuantificado empleando una curva de calibración utilizando estándares certificados. **Resultados:** Los resultados señalan que el promedio de mercurio total en los sedimentos fue $0,18 \pm 0,01 \mu\text{g/gp.s}$ y en seston fue $0,160 \pm 0,002 \mu\text{g/gp.s}$. En ambos casos el 10 % corresponde a metilmercurio. Se encontró una correlación entre HgT y CH₃Hg en sedimentos ($r = 0,87$ $p < 0,0001$) y en seston ($r = 0,66$ $p = 0,0003$). **Conclusiones:** El potencial redox determina el proceso de metilación tanto en sedimentos como en el seston.

Paisio, González, Talano y Agostini. (2012), Remediación biológica de Mercurio. La biotecnología basada en la aplicación de algas para control de contaminación ha sido usada entre otras cosas para la remoción de compuestos inorgánicos. Siendo la eliminación de metales pesados de efluentes industriales y aguas residuales domésticas, uno de los principales focos. Diversos investigadores han estudiado las algas como mecanismos de remoción de mercurio observando que diferentes especies pertenecientes a los géneros *Scenedesmus*, *Chlorella* y *Oscillatoria* fueron capaces de adsorber mercurio (entre un 10 - 40 % de 100 mg/L). Por otro lado demostraron la capacidad de *Kappaphycus alvarezii* para remediar mercurio en ambientes marinos, después de 5 días de contacto con agua de mar suplementada con 10 mg/L de este metal, se observó la acumulación y remoción del contaminante en el medio acuoso, debido a mecanismos de intercambio iónico.

Piña, et al. (2012), Avances en Química, Universidad de Los Andes Mérida, Venezuela. Optimización de un método analítico para la determinación de mercurio en muestras ambientales por Espectrometría UV - Visible. Objetivo: Determinar mercurio en muestras ambientales por espectroscopia UV- Visible. **Metodología:** El método colorimétrico de la ditizona fue modificado para la determinación de mercurio en agua y tejido de *Lemna minor* y *Piaractus brachipomus*. El límite de detección (4 - 22 µg/L) fue satisfactorio para estudios ambientales. **Resultados:** La concentración de mercurio para muestras foliares secas de *Lemna* fue de 40 mg/kg. Para las muestras de cachama no se detectó el elemento. La evaluación de la exactitud se analizó en patrones sin diferencias significativas. Para la biota digerida se obtuvieron porcentajes de recuperación en el rango de 85 - 120 %. La precisión fue menor al 10 % de desviación estándar relativa en todos los casos. **Conclusiones:** Se demostró la capacidad del método para determinar resultados linealmente proporcionales dentro del rango de 0,05 a 1,00 mg/L para volúmenes de 2, 3 y 4 mL. Para volúmenes de muestra de 5 y 6 mL un rango de 0,01 - 1mg/L. El método es adecuado para la determinación de mercurio en agua, tejido de cachama y *Lemna minor*.

Plaza, J. (2012), Remoción de metales pesados empleando algas marinas. Objetivo: Evaluar la posibilidad de uso de macroalgas marinas, *Macrocystis pyrifera* y *Undaria pinnatifida*, provenientes de la Patagonia Argentina para la remoción de mercurio, zinc, cadmio, cromo y níquel de soluciones acuosas. **Metodología:** Se pesaron 2,00 g de material biológico seco y se colocaron en un crisol de porcelana, el cual fue llevado a una mufla a 405 °C durante toda la noche, se esperó hasta que la temperatura de las muestras se estabilizara y se pesaron las cenizas; la determinación se realizó por duplicado. El porcentaje de materia orgánica se calculó en base a la diferencia entre el peso total del alga y el peso de cenizas obtenidas. **Resultados:** De acuerdo a los

resultados la *U. pinnatifida* tiene mayor cantidad de materia orgánica, alto contenido de alginato, proteínas, y mayor área superficial específica, lo que en principio indicaría que esta especie es un mejor biosorbente que *M. pyrifera*, aunque esta exhibe una mayor capacidad de intercambio catiónico. Otra propiedad importante a tener en cuenta en los biosorbentes, es que la cantidad de mercurio inorgánico, zinc, cadmio, cromo y níquel adsorbido por ambos biomateriales pudo ser determinada mediante Espectrometría de Masas con Plasma acoplado inductivamente sin interferencia. **Conclusiones:** La *U. pinnatifida* tuvo mayor capacidad de adsorción que *M. pyrifera* y a su vez *M. pyrifera* tuvo mayor coeficiente de afinidad por los metales pesados estudiados. El empleo de estas dos especies de algas marinas es de gran utilidad como biosorbentes debido a que *M. pyrifera* es un recurso natural abundante no valorado, sub - explotado y el uso *U. pinnatifida* permitiría el control de su crecimiento poblacional.

Antecedentes históricos

Blesa, A. M & Castro, G. (2015), Asociación Argentina para el Progreso de las Ciencias, Historia natural y cultural del mercurio. El mercurio fue utilizado por diversas culturas como símbolo de poder de reyes y emperadores, por sus propiedades que parecían mágicas. Se dice que la monumental tumba del emperador chino Qin Shi Huang muerto en el año 210 antes de Cristo, estaba rodeada de ríos de mercurio puesto que se creía le darían inmortalidad. Esto concreto el hecho, de que el suelo en los alrededores del mausoleo contiene niveles muy altos de mercurio.

Calvo, F. A. (2011). Cara y Cruz del mercurio. Hace dos mil años más o menos alguien escarbó en la Bética, y en un rincón de ella encontró la piedra que molida cedía polvo fino de sulfuro de mercurio (HgS). Mineral que llevado a Roma (10.000 libras en bruto se llevaban anualmente), era molido y lavado por manipuladores de asentistas en las fábricas de los templos de flora. Este lavado del molido para separar el sulfuro de mercurio es el primer proceso conocido de concentración por flotación. Años después Dioscórides descubrió las primeras manifestaciones tóxicas e interpretó porque lo atravesaba. Galeno inspirado en ello (siglo II de nuestra era) lo declaraba tóxico en todas sus formas y ponía todo su prestigio en recomendar que no se emplease en medicina. Antes de iniciarse la química de los organometálicos, y más concretamente de los organomercuriales la intoxicación por mercurio inorgánico, así como algunos de sus compuestos, era ya bien conocida. Ivan el Terrible murió en 1584, y sobre cuya muerte investiga la Academia de Ciencias de la Unión de Repúblicas Socialistas Soviéticas (URSS) por haberse encontrado grandes cantidades de mercurio en sus restos. Carlos II de Inglaterra gran aficionado a la experimentación que también se sospecha murió por intoxicación con mercurio.

García, G. (2010), Determinación de mercurio por Generación de Vapor Frío y Detección vía Absorción y Fluorescencia Atómica. Objetivo: Optimizar las condiciones instrumentales de análisis para la detección de mejores señales. **Metodología:** Se seleccionaron muestras líquidas en agua y muestras sólidas de sedimentos marinos. El contenido de mercurio en muestras líquidas se determinó utilizando Espectrometría de Fluorescencia y Absorción Atómica con Vapor Frío; mientras que el contenido de mercurio en muestras sólidas de sedimentos marinos se determinó mediante Espectrometría de Absorción Atómica con Vapor Frío. **Resultados:** la generación de Vapor Frío permite obtener límites de detección a nivel trazas y

se puede aplicar fácilmente tanto a muestras sólidas como líquidas. Un detector de Fluorescencia Atómica permite realizar la detección de concentraciones por encima de 0,05 ug/L para muestras líquidas. Mientras que su acople a un detector de Absorción Atómica permite realizar la detección para muestras sólidas por encima de 9,52 ug. **Conclusión:** Se recomienda la utilización de este sistema de Generación de Vapor Frío para la determinación de mercurio en forma rutinaria, en los tipos de muestras aquí estudiados, especialmente si se quiere determinar el contenido mediante lixiviación de muestras sólidas.

Rodríguez, E. (2009), UDO Space Repositorio Institucional de la Universidad de Oriente, Evaluación de algas pardas (*Sargassum sp.*) para la bioadsorción de iones Cu^{2+} Y Ni^{2+} en solución acuosa. Objetivo: Evaluar la capacidad de bioadsorción de iones cobre (Cu^{2+}) y níquel (Ni^{2+}) de la *Sargassum sp.* en solución acuosa. **Metodología:** Se estudió la capacidad de bioadsorción de los iones níquel (Ni^{2+}) y cobre (Cu^{2+}) en tres tipos de sorbentes: *Sargassum sp.*, alginato de sodio, *Sargassum sp.* inmovilizado con el alginato de sodio a pH 3,0; 4,0 y 4,9, temperatura fija de 30 °C y un tiempo de contacto de 6 horas. **Resultados:** Se obtuvo para el *Sargassum sp.* la máxima capacidad de adsorción a pH 4,9 de 108,6 mg/g para Ni^{2+} y 34,12 mg/g para Cu^{2+} . El alginato de sodio mostró una mayor capacidad de adsorción a pH 4,9 siendo 45,45 mg/g para Ni^{2+} y 46,51 mg/g para Cu^{2+} . El *Sargassum sp.* inmovilizado con alginato de sodio mantuvo la misma tendencia de presentar máxima adsorción a medida que se incrementaba el pH siendo 98,03 mg/g para Ni^{2+} y 114,94 mg/g para el Cu^{2+} cuando el pH fue de 4,9. **Conclusiones:** Los grupos funcionales existentes en el alga y en el alginato de sodio fueron C=O, C-O-C, COOH; demostrando de tal modo que estos se encuentran directamente relacionados con la adsorción de los respectivos

iones metálicos. El análisis fue realizado por Microscopía Electrónica de Barrido.

Seolatto, (2009), Eliminación de Ni^{2+} a partir de soluciones acuosas por biomasa del *Sargassum filipédula* en múltiples ciclos de adsorción y desorción. **Objetivo:** Eliminar Ni^{2+} de soluciones acuosas empleando biomasa del *Sargassum filipédula*. **Metodología:** Se estudió el rendimiento del *Sargassum filipédula* en la eliminación de níquel a partir de una solución de concentración de 50 mg a pH 3,5 en las columnas de lecho fijo que operan en ciclos de adsorción /desorción; se realizaron diez ciclos consecutivos, uno con eluyente de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0,1 mol/L y otro con sulfato de magnesio /ácido sulfúrico (MgSO_4 / H_2SO_4) (pH = 3) como eluyente sistema de recirculación. Los pasos de adsorción y desorción se realizaron a 30 y 2 horas, respectivamente, lo que representa 20 días de uso continuo de la biomasa. **Resultados:** Se obtuvo una alta cantidad de níquel recuperado en las etapas de elución (aproximadamente 95 %). **Conclusión:** Se encontró que el alga *Sargassum filipédula* mantuvo alta capacidad de eliminación de níquel, siendo una alternativa eficaz para el tratamiento de aguas residuales que contienen metales.

Vallejo, K. (2008), UDO Space Repositorio Institucional de la Universidad de Oriente, Estudio de la adsorción de Cd^{2+} y Pb^{2+} , usando como adsorbente la *Ulva lactuca* (lechuga de mar). **Objetivo:** Determinar la adsorción de los iones cadmio (Cd^{2+}) y plomo (Pb^{2+}) usando la *Ulva lactuca* como adsorbente. **Metodología:** Se realizaron varias pruebas para determinar la capacidad de adsorción de la *Ulva lactuca*, de iones Cd^{2+} y Pb^{2+} presentes en soluciones acuosas, bajo diferentes condiciones de pH y concentración del metal, mediante agitación constante; así como también, se estudió la retención de dichos metales con *Ulva lactuca* inmovilizada con alginato. Esta biomasa, fue recolectada en la Playa el Castillo, localizada en la Península de Araya del

Estado Sucre, se determinó Cd^{2+} y Pb^{2+} , antes y después de ser lavadas con HCl. La capacidad de bioadsorción de la *Ulva lactuca*, fue determinada en función de las concentraciones de los iones Cd^{2+} y Pb^{2+} a pH 3,0 4,0 y 5,0 a una temperatura fija de 30 °C, durante 6 horas. **Resultados:** La *Ulva lactuca* arrojó una máxima capacidad de adsorción de 120,48 mg/g y 131,58 mg/g para el Cd^{2+} y Pb^{2+} respectivamente a pH 5,0. De igual forma inmovilizada con alginato la capacidad máxima de adsorción fue 140,85 mg/g para el Cd^{2+} y 144,93 mg/g para el Pb^{2+} . Se determinó, que el pH óptimo para la remoción es de 5,0. **Conclusiones:** Se demostró que la *Ulva lactuca* pudo ser inmovilizada con el alginato, y que corresponde a un excelente bioadsorbente de metales pesados.

Díaz et al. (2003), Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia, Biosorción de Fe, Al y Mn de drenajes ácidos de mina de carbón empleando algas marinas *Sargassum sp.* en procesos continuos.

Objetivo: Determinar la biosorción de hierro (Fe), aluminio (Al) y manganeso (Mn) de drenajes ácidos de mina de carbón empleando el alga *Sargassum sp.*

Metodología: Se preparó una disolución de drenaje en el laboratorio con idénticas concentraciones del drenaje ácido de mina (DAM). Empleando reactivos analíticos. Para ajustar el valor del pH se utilizó ácido clorhídrico concentrado. Como criterio para determinar el volumen de drenaje ácido tratado adecuadamente, la concentración máxima permitida fue 6, 1 y 5 mg/L para Fe, Mn y Al respectivamente. Los experimentos se realizaron colocando 50 mL de drenaje ácido de mina (DAM) con una determinada masa de alga triturada (diámetro de partícula aproximadamente 2 - 3 mm), con el fin de obtener una relación (peso biomasa / volumen drenaje) específica para cada prueba. Este sistema se agitó a 50 rpm durante 3 horas, tiempo suficiente para alcanzar la remoción de los metales por parte del alga *Sargassum sp.* mediante filtración se separó el alga de la disolución de DAM, a esta última se le determinó pH y concentración de metales. **Resultados:** Se encontró que

estas relaciones mínimas son de 30 g biomasa /L drenaje para Fe, 20 g biomasa/L drenaje para Mn y 18 g biomasa /L drenaje para Al. Estos resultados, indican que debido a la presencia de Fe, Mn, Al y otros metales en el DAM, es conveniente utilizar la relación de 30 g biomasa/L drenaje. **Conclusiones:** El pre - tratamiento con H_2SO_4 , anuló la capacidad de adsorción del alga; se estudió la calcinación como alternativa para su manejo. La ceniza obtenida a 700 °C mantiene los metales removidos del DAM, además permanece estable al ataque de soluciones de diferente pH.

Antecedentes Teóricos

Mercurio- Propiedades Físicas y Químicas

El mercurio (Hg), es un metal de color plateado que permanece en estado líquido a temperatura ambiente. Su número atómico es 80, es uno de los elementos de transición del sistema periódico. El mercurio, en otra época llamado plata líquida o azogue, fue objeto de estudio de la alquimia. El químico francés Antoine Laurent de Lavoisier lo identificó por primera vez como elemento durante sus investigaciones sobre la composición del aire (Kirk y Othmer, 2004).

A temperatura ambiente, el mercurio es un líquido brillante, denso, de color blanco plateado, ligeramente volátil, se solidifica a una presión de 7,640 atmósferas (5.800,000 mm Hg). Se disuelve en ácido nítrico y en ácido sulfúrico concentrado, pero es resistente a los álcalis. Tiene un punto de fusión de 39 °C, un punto de ebullición de 357 °C y una densidad relativa de 13,5 g/mL. Su masa atómica es 200,59 g/mol (Kirk y Othmer, 2004).

Compuestos de Mercurio

El mercurio ocupa el lugar 67 entre los elementos de la corteza terrestre, se encuentra en una abundancia de 0,5 ppm (mg/L). Se presenta en la naturaleza bajo diferentes modalidades, ya sea en forma metálica, de vapor o gas, combinado con otros elementos (como cloro, azufre y oxígeno) para formar sales inorgánicas, o bien formando compuestos orgánicos (como el metilmercurio o el fenilmercurio), los cuales también pueden presentarse en forma de sales a través de procesos naturales, en los que pueden intervenir microorganismos, el mercurio inorgánico puede ser transformado en mercurio orgánico (Kirk y Othmer, 2004).

Forma sales en dos estados de oxidación: mercurio (I) y mercurio (II). Las sales de mercurio (II) o mercúricas son mucho más comunes que las sales de mercurio (I). La mayoría de los compuestos inorgánicos de mercurio son polvos blancos o cristalinos, excepto el sulfuro de mercurio (también conocido como cinabrio) que es rojo y se torna blanco al exponerse a la luz (Kirk y Othmer, 2004).

A continuación se presentan algunos de los compuestos inorgánicos de mercurio más comunes en la corteza terrestre cloruro mercurioso (HgCl), cloruro mercúrico (HgCl_2), óxido mercúrico (HgO), sulfuro mercúrico o cinabrio (HgS), nitrato de mercurio ($\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$), sulfato de mercurio (HgSO_4), perclorato de mercurio ($\text{Hg}(\text{ClO}_4)_2$), cianato de mercurio o fulminato ($\text{Hg}(\text{CNO})_2$), hidróxido de mercurio ($\text{Hg}(\text{OH})_2$) (Galvão & Corey, 1987).

Niveles ambientales y exposición humana

La principal incorporación a las cadenas tróficas, es a partir del mercurio metálico. Es volátil y a temperatura ambiente se está sublimando. Se incorpora a la atmósfera en forma de vapor sufriendo procesos posteriores de transformación en la especie soluble de Hg^{2+} . La corteza terrestre contiene un promedio de aproximadamente $0,02 \text{ mg/m}^3$ de mercurio. El aire contiene en promedio $0,005 - 0,06 \text{ ng/m}^3$, el agua dulce $0,1 \text{ mg/L}$, el agua de mar $0,03 \text{ mg/L}$ de mercurio. Los suelos típicamente contienen $20 - 150 \text{ ug/m}^3$ de mercurio (Rojas, 2012).

Ciclo biogeoquímico del mercurio

Según Gaona (2004), el mercurio alcanza el ambiente marino de diferentes fuentes acumulándose en los sedimentos a distintos gradientes de concentración. Los niveles más altos se encuentran hacia la superficie; debido a la actividad microbiana se introduce en el ciclo acuático por procesos físicos y químicos.

La forma dominante en la atmosfera es el Hg^{2+} . Una vez en la superficie del agua ocurren rápidas transformaciones geoquímicas. La metilación es un paso importante en este proceso ya que el metilmercurio (CH_3Hg^+) es la forma más bioacumulativa.

El Hg^0 es extraído del agua por evasión del aire, siendo el carbono orgánico disuelto un vehículo importante. Es oxidado espontáneamente en presencia de luz, produciendo el catión Hg^{+2} y regresando al agua en la lluvia. Muchos microorganismos aportan el grupo metílico al catión mercurial Hg^{+2} usando enzimas para producir el metilmercurio. El ácido sulfhídrico (H_2S)

reacciona con el catión Hg^{+2} reduciéndolo para formar el sulfuro mercurioso insoluble y este es transformado por bacterias a monometilmercurio.

El plancton, primer eslabón en la cadena alimenticia acuática, toma el mercurio concentrando los compuestos orgánicos e inorgánicos por asimilación directa del medio, liberándolo posteriormente al medio acuático en una forma que puede ser mucho más tóxica para los organismos superiores, este proceso es llamado biomagnificación.

El mercurio como agente agresor del medio ambiente

Constituye un contaminante sumamente agresivo del medio ambiente. Se puede encontrar en sus estados de oxidación, Hg (0), Hg (I), Hg (II), y en todos los estados de agregación, sólido, líquido y gaseoso. Las emisiones de mercurio a la atmósfera se deben principalmente a derrames hechos por industrias cercanas. En Venezuela, la explotación minera de oro ha contaminado la cuenca del río Caroní ya que el mercurio tiene la capacidad de formar amalgamas con este metal precioso (Gaona, 2004).

Dada la naturaleza volátil del mercurio, este puede ser transportado a grandes distancias por la lluvia y el aire. A pesar de ser más común la presencia de estas especies en medio acuático que en suelos la capacidad de retener mercurio por parte de los sedimentos retrasa la eliminación de la contaminación por muchos años. El mercurio en ninguna de sus formas tiene función benéfica alguna en los humanos y cualquier exposición de largo o corto plazo puede conducir a una alteración progresiva del funcionamiento normal de los órganos donde se acumula (Kirk y Othmer, 2004).

Toxicidad del mercurio y valores aceptados

Los mecanismos biológicos para excretar el mercurio son muy ineficientes. Lo que lo hace extremadamente tóxico tanto para animales como plantas, aun en bajas concentraciones. Es así que el aumento de los niveles de mercurio puede provocar daños en cualquier organismo expuesto. Los órganos que suelen acumular mercurio son: riñones, hígado, sistema nervioso central (Shigeo et al., 2007).

Los seres humanos están expuestos a contaminación por mercurio de varias formas. Por consumo de peces y moluscos provenientes de aguas contaminadas, inhalación de vapores de mercurio proveniente de la incineración de amalgamas en la minería, inhalación de las emisiones de industrias que utilizan catalizadores de mercurio, por contacto directo con el mercurio proveniente de los termómetros utilizados en casa, y en algunos países el peligro es mayor pues se siguen utilizando amalgamas de mercurio en los empastes dentales (Kirk y Othnmer, 2004).

Exposiciones continuas pueden ocasionar trastornos en niños y adultos. Una madre contaminada por mercurio le transmite al feto gran cantidad presente en su cuerpo. Los tejidos fetales tienen mayor afinidad para unirse al metilmercurio que los tejidos de la madre (Harada, 1978).

En adultos expuestos continuamente puede provocar una disminución en la capacidad visual y auditiva. Deficiencia en los sentidos del olfato, gusto y tacto. También se pueden presentar atrofas musculares, temblores involuntarios, alteraciones del aparato digestivo, pérdida del apetito, peso, daños en los riñones, malformaciones y hasta la muerte (Li, 2008).

Existen diversas opiniones que establecen los niveles de mercurio permitidos. La Organización Mundial de la Salud (2005) mediante el Boletín N°1 Salud y Medio Ambiente; concluyó a través de distintos estudios, que

valores menores a 50 ug/g de cabello no representan un riesgo significativo a la salud de la población adulta (mujeres no embarazadas y hombres).

Los niveles de mercurio asociados a suelos y sedimentos no contaminados están entre 0,03 mg/kg a 0,5 mg/kg. Este intervalo de concentraciones implica que la determinación de mercurio debe realizarse con técnicas que pueden detectar cantidades realmente bajas (Bryan, 1992).

Algas

Bajo este concepto se reúnen organismos vegetales muy heterogéneos que comparten características comunes. Propias que las identifican como grupo: se consideran plantas talofitas, es decir, no poseen raíz, tallo y hoja. Son organismos autótrofos, tienen la capacidad de sintetizar su propio alimento. Las algas son fundamentalmente acuáticas y viven tanto en agua dulce como en agua de mar.

Su diferencia de formas ha permitido clasificarlas en diferentes grupos de acuerdo a sus características estructurales, como: tipo de célula, reproducción, nutrición y pigmentos. Se conocen 3 grupos de algas: las verdes (Chlorophyta), rojas (Rhodophyta) y pardas (Phaeophyta), esta clasificación ha respondido al tipo de pigmento.

La importancia de las algas se ha mirado tradicionalmente desde el punto de vista biológico. Debido a que son organismos fotosintéticos principales de ríos, lagos y mares. Producen oxígeno, materia orgánica y son la base de la cadena alimenticia de los ecosistemas acuáticos. Establecen relaciones con otros seres vivos, animales y vegetales, donde ambos organismos sacan provecho de su asociación o donde uno de los dos resulta perjudicado (Molina & Nelrrama, 2009).

Algas pardas

Taxonomía

Reino: Chromista.

División: Phaeophyta.

Phylum: Ochrophyta.

Clase: Phaeophyceae.

Orden: Fucales.

Familia: Sargassaceae.

Género: *Sargassum*.

Especie: *Sargassum* sp.

Características generales

Poseen un disco adhesivo de 1,3 cm de diámetro, 1,8 cm de altura con una superficie verrugosa que lleva de seis a ocho ramas primarias de 1 m de largo o más con pequeñas espinas en el margen que emiten ramas secundarias regularmente dispuestas de forma alterna de hasta 76 cm de largo. Hojas puntiagudas simples de 5,2 - 51,0 mm de largo, 2,5 – 13,5 mm de ancho, 1,5 – 5,2 de longitud con un vértice agudo dentado. La nervadura central llega cerca del ápice, las secundarias se disponen en filas a ambos lados del nervio central. Numerosas vesículas de aire están presentes para dar flotabilidad a la planta (Ajisaka, Noro, & Yoshida, 1995).



Figura 1. Sargassum sp. (López 2011).



Figura 2. Sargassum sp. (Carrero & Rincón, 2016).

Hábitat

Fundamentalmente se encuentran en aguas saladas. Pocas representantes en agua dulce y son todas pluricelulares. Tienen preferencias por situarse en zonas intermareales, que son zonas de flujo y reflujo (Molina & Nelrrama, 2009).

Es un género principalmente tropical y subtropical, se puede encontrar tanto fijo en las playas como flotando libremente en mar abierto. Se reproducen por desprendimiento de un fragmento, el cual flota, se aleja y forma una nueva planta. Esta es un alga parda perteneciente a la familia de las Sargasáceas. Pueden crecer varios metros, y que posee una textura bastante dura que le ayuda a sobrevivir a fuertes corrientes (Madruger & Hunt, 1979).

Pigmentos

Poseen cloroplastos y son en gran parte parduscos contiendo clorofilas A - C y beta - carotenos. Su color se debe a la presencia del pigmento fucoxantina, junto con otros pigmentos xantofílicos, enmascara el color verde de la clorofila en las células vegetales. Tienen pigmentos fotosintéticos especiales cuya coloración oscila entre amarillo y rojo intenso (Molina & Nelrrama, 2009).

Reproducción

Presenta ciclo sexual esporofítica (diploide) y gametofítica (haploide), ambas generaciones son multicelulares e independientes fisiológicamente. La

generación esporofítica se inicia por fusión de gametos y la generación gametofítica se inicia por división reduccional que culmina con la formación de esporas (Abbott, 1996).

Algas verdes o clorófitas

Taxonomía

Reino: Plantae.

División: Chlorophyta.

Filo: Chlorophyta.

Clase: Chlorophyceae.

Orden: Uvales.

Familia: Ulvaceae.

Género: *Ulva*.

Especie: *fasciata*.

Características Generales

La pared celular, al igual que la de las plantas terrestres, se compone de celulosa y pectina. Las clorófitas presentan una gran variedad de formas y niveles de organización. Incluyendo formas unicelulares móviles (biflageladas), inmóviles, filamentosas (simples o ramificadas) y laminadas con

pseudotejidos. La mayoría son de tamaño microscópico, aunque las hay de más de 1 m de longitud (Smith, Michael & Shin, 1995).

Presenta talos delgados similares a una lámina, de 10 - 15 cm de ancho en la base y van estrechándose hacia arriba para menos de 2,5 cm de ancho en la punta. Pueden llegar a medir hasta 1 metro de largo. Basalmente son amplias, divididas profundamente en muchas cintas como segmentos, márgenes lisos, a menudo se ondulan. Hierba de color verde brillante a verde oscuro en los márgenes, puede ser incoloro cuando se somete a condiciones de estrés (Cano, 2008).



Figura 3. *Ulva fasciata* (Guiry & Guiry, 2016).



Figura 4. *Ulva fasciata* (Carrero & Rincón, 2016).

Hábitat

Viven en su mayoría en las aguas continentales. Las clorófitas pueden colonizar hábitats diversos y crecer en condiciones adversas. Existen pocas especies que pueden vivir en los dos medios e incluso en aguas salobres para poder realizar la fotosíntesis (Smith, Michael & Shin, 1995).

Pigmentos

Sus pigmentos y sustancias de reserva son semejantes a la de las plantas terrestres. Consideradas por muchos botánicos como las

predecesoras de las plantas superiores. Sus plastos son portadores de clorofila “a” y “b” que son los pigmentos responsables de su coloración verdosa. Presentan también algunos carotenoides como pigmentos auxiliares (Litter & Mark, 2000).

Reproducción

La reproducción observada es muy variada, existiendo tanto la asexual como la sexual. Asexualmente se reproducen por medio de esporas móviles (zoosporas) o inmóviles (planosporas). Sexualmente este grupo, presenta dos gametos donde un óvulo inmóvil y de gran tamaño es fecundado por un espermatozoide móvil y pequeño. Los órganos reproductores asexuales son esporangios, mientras que los sexuales son gametangios, anteridios y oogonios.

Ulva fasciata, también conocida como lechuga de mar, es un alga verde que se utiliza para el consumo en muchas partes del mundo debido a los altos nutrientes que posee. Presenta talos delgados similares a una lámina, son anchos en la base se estrechan hacia arriba, a menudo se ondulan y pueden medir hasta 1 metro de largo (Littler & Mark, 2000).

Hábitat

Se encuentra comúnmente en rocas intermareales, pozas, plataformas de los arrecifes. Es abundante en las zonas de escurrimiento de agua dulce, cerca de la desembocadura de arroyos y tuberías de escurrimiento con alta cantidad de nutrientes (Smith, Michael & Shin, 1995).

Ecología – Impacto

Es tolerante a condiciones de estrés. Su éxito oportunista se puede atribuir a la morfología simple y fecundidad. La reproducción de esta alga se debe en parte a la capacidad fotosintética de las células reproductoras. Las zoosporas y gametos realizan la fotosíntesis contribuyendo con su motilidad y rápido crecimiento (Smith, Michael & Shin, 1995).

Espectroscopia de Absorción Atómica en Vapor Frío

La Absorción Atómica es el proceso mediante el cual el átomo en estado fundamental absorbe energía a una longitud de onda específica y pasa al estado excitado. La Espectroscopia de Absorción Atómica usa este proceso para cuantificar la cantidad de energía. La técnica de Vapor Frío solamente es aplicable a la determinación de mercurio ya que es el único elemento metálico que tiene una presión vapor apreciable a temperatura ambiente. Con este diseño todo el mercurio presente en la muestra es reducido para formar vapor de mercurio elemental.

El uso de fuentes especiales de radiación y la selección cuidadosa de la longitud de onda, permite la determinación cuantitativa específica de elementos individuales en presencia de otros. En el caso del mercurio, la longitud de onda corresponde a 253,7 nm (Rojas, 2012).

La fuente de energía debe emitir una longitud de onda específica. Esto hace de la Absorción Atómica una técnica analítica sin interferencias espectrales. La lámpara de cátodo hueco es una excelente fuente de energía discreta para la mayoría de los elementos determinables por Absorción Atómica. Uno de los espectrofotómetros de absorción atómica más conocidos es el Perkin Elmer, al cual se le puede acoplar un sistema de Generación de Hidruros. Se utiliza como agente reductor el borohidruro de sodio (NaBH_4) en

solución con hidróxido de sodio (NaOH). El vapor de mercurio generado se traslada al detector mediante el uso de un gas de arrastre (Cabrera, 2007).

Fundamento de la técnica

Según Rojas (2012), el mercurio iónico presente en la muestra se reduce a mercurio elemental por la acción del hidrógeno nascente que proviene de la reacción del borohidruro de sodio en un medio ácido. La medida de absorción se lleva a cabo a 253,7 nm y la cuantificación se efectúa por interpolación en una curva de calibración construida con patrones de adición conocida. En el caso de las reacciones en solución, una combinación metal - ácido, o más comúnmente la reacción con el borohidruro de sodio (NaBH_4) o de potasio (KBH_4) se usa para la generación del Vapor Atómico de mercurio. Al igual que en la generación de hidruros, en la generación de Vapor Atómico de mercurio, existen básicamente tres métodos en solución:

Flujo Continuo (CF): en el que un flujo constante de la solución de la muestra acidificada se mezcla con un flujo constante de la solución de borohidruro de sodio y del gas de purga. Las fases líquidas y gaseosas son luego separadas en un separador de fases y la mezcla de gases resultante es conducida hasta el atomizador.

Inyección en Flujo (FI): es muy similar al modo CF con la diferencia que en lugar de un flujo constante de muestra se utiliza un flujo constante de solución portadora en el que se inyecta un segmento de la muestra acidificada.

Modo Manual (MM), este se realiza en un envase de vidrio o de plástico, el cual sirve tanto de reactor como de separador de fases, en el que se colocan de manera sucesiva una cantidad fija de la solución de la muestra y del agente reductor, usualmente NaBH_4 . Finalmente, el Vapor Atómico generado es removido del envase con el gas de arrastre para su posterior detección.

Existen diferentes variables que determinan la eficiencia del proceso de Generación de Vapor Frio (CVG) en solución:

- ✓ La concentración de ácido en la solución del analito.
- ✓ Concentración y naturaleza del agente reductor.
- ✓ Naturaleza y flujo de gas portador.
- ✓ Tipo y naturaleza del separador de fases y del atomizador utilizado.

Norma Venezolana COVENIN

En la Tabla N° 1 se muestra lo establecido en la norma venezolana COVENIN 2253: 2001 de las concentraciones ambientales permisibles de sustancias químicas en lugares de trabajo e índices biológicos de exposición:

Tabla 1. Concentraciones ambientales permisibles de sustancias químicas

SUSTANCIAS	CAP		LEB	
	ppm	mg/m ³	Ppm	mg/m ³
Mercurio (Hg). Piel				
Compuestos alquílicos	-	0,01	-	0,03
Compuestos arílicos	-	0,1	-	-
Inorgánicos, incluyendo mercurio metálico	-	0,025 A4 IBE	-	-

CAP: concentración ambiental permisible.

LEB: límites de exposición breve.

Definición de Términos

Antropogénico

Este término sugiere que cualquier teoría que se formule sobre la naturaleza del universo, incluye la existencia de los seres humanos. Refiriendo

a los efectos, procesos o materiales que resultan de las actividades humanas, es decir, lo antropogénico tiene su origen por la actividad humana, esto se debe a que los humanos ven el mundo como la razón de ser para su propia existencia (Guarnera, 2013).

Espectroscopía

La Espectroscopia es básicamente una ciencia experimental que estudia la absorción, emisión y dispersión de la radiación electromagnética por la materia (átomos, moléculas e iones) (Rodríguez, 2009).

Estuario

Es una zona de transición donde se mezcla el agua dulce proveniente de un río y el agua salada de un ecosistema marino. En zonas tropicales dan origen a manglares, áreas ricas en nutrientes, debido a los depósitos de los sedimentos y los organismos vivos. Estas características permiten que se presente una diversidad de ambientes o hábitats. Los organismos característicos de los estuarios han desarrollado adaptaciones especiales frente a las mareas y grandes variaciones de salinidad que permite aprovechar los beneficios de estas zonas (Guarnera, 2013).

Masa Húmeda

Es la cantidad de agua contenida en un material, medida sobre la base de análisis volumétricos, gravimétricos (Walsh, 1972).

Masa Seca

Se refiere a la parte seca de una materia cuando se le ha extraído el agua contenida tras someter a un calor moderado logrando que toda el agua se evapore (Rodríguez, 1991).

Metales pesados

Son un tipo de elementos químicos, muchos de los cuales son tóxicos para los seres humanos. De ellos, mercurio (Hg), plomo (Pb), cadmio (Cd), y arsénico (As), son los que presentan el mayor peligro ambiental, debido a su uso extensivo, toxicidad, y amplia distribución. Los metales pesados no son totalmente degradables, se acumulan en los sistemas ambientales (Colin, 2004).

Los residuos de metales pesados, pueden acumularse en los microorganismos, flora y fauna acuática, de esta manera entrar en las cadenas alimenticias, dando como resultado problemas de salud (Hernández y cols., 2012).

Plancton

Algas unicelulares (fitoplancton) y animales (zooplancton) que tienen una locomoción limitada y son por lo tanto, distribuidos por los movimientos del agua (Plaza & Valdez, 1999).

Sestón

Es el material diminuto que se mueve en el agua, incluyendo organismos vivos como el plancton y material no vivo (formado por partículas de restos vegetales, animales y partículas de suelo suspendidas), a este material no viviente se le llama tripton (Treviño, 1971).

Zoosporas o Planosporas

Son las esporas asexuales las cuales se forman en una vesícula originada en el exterior del esporangio (Andrés, 2015).

Tabla 2. Operacionalización de las Variables

Variable	Tipo de Variable	Definición Conceptual
Mercurio	Variable Dependiente Continua	Son aquellas que se modifican por acción de la variable independiente. Constituyen los efectos o consecuencias que se miden y que dan origen a los resultados de la investigación (Arias, 2004)
Algas (<i>Sargasum sp.</i> <i>Ulva fasciata</i>)	Variable Independiente Continua	Son las causas que generan y explican los cambios en la variable dependiente. En los diseños experimentales la variable independiente es el tratamiento que

		se aplica y manipula en el grupo experimental (Arias, 2004)
Espectroscopia de Absorción Atómica en Vapor Frío	Variable Interviniente	Es aquella que puede influir en la variable dependiente, pero que no está sometida a consideración como variable de investigación (Arias, 2004).

Sistema de Hipótesis

Las algas marinas *Sargassum sp.* y *Ulva fasciata* colectadas en el Parque Nacional Morrocoy y la Costa San Juan de Los Cayos, presentan niveles de mercurio. Por lo tanto, son una buena herramienta como bioindicadores de contaminación mercurial, permitiendo generar soluciones orientadas a disminuir y evitar la contaminación.

En las algas marinas *Sargassum sp.* y *Ulva fasciata* colectadas en el Parque Nacional Morrocoy y la Costa San Juan de Los Cayos, no se encontraron niveles de mercurio. Por lo tanto, no son una buena herramienta como bioindicadores de contaminación mercurial. De esta forma no es posible generar soluciones orientadas a disminuir y evitar la contaminación.

CAPITULO III

MARCO METODOLÓGICO

Tipo de Investigación

El tipo de investigación está relacionado con la profundidad del estudio, la cual es marcada por el verbo que enuncia el objetivo general. En tal sentido, los tipos de investigación pueden ser: exploratoria, descriptiva, analítica, comparativa, explicativa, productiva, proyectiva, interactiva, confirmatoria y evolutiva. (Hurtado, 2010). Por lo tanto, esta investigación es exploratoria debido a que su propósito es el de dar respuesta a la pregunta de investigación; siendo la primera aproximación del investigador con el objeto de estudio.

Diseño de Investigación

El diseño de investigación está relacionado con el cómo y dónde se recolectaran los datos del evento de estudio. Al respecto, puede ser de campo si los datos se recolectan en un ambiente real. También puede ser contemporáneo o retrospectivo si los datos se recolectan durante el proceso o lugar recolectado previamente. En cuanto a la amplitud de la información recolectada el diseño puede ser univariante o multivariante. Finalmente si la información se recolecta en un solo momento el diseño es transversal. (Hurtado, 2010; Palella & Martins, 2011). Por eso este estudio es de campo, univariante y transversal.

Población y Muestra

Población: La unidad de investigación está representada por 12 g de algas *Sargassum sp* y *Ulva fasciata* colectadas respectivamente en el Parque Nacional Morrocoy y la Costa San Juan de Los Cayos.

Muestra: Fue seleccionada con criterios no probabilísticos correspondiendo a un muestreo casual o accidental. Se usaron 0,2 g de masa seca para cada ensayo y 0,5 g de masa húmeda.

Sistema de Variables

El sistema de variables que se presenta en esta investigación será:

Variable dependiente (VD): Mercurio.

Variable independiente (VI): Las algas marinas *Sargassum sp* y *Ulva fasciata*.

Variable interviniente (VIn): Espectroscopia de Absorción Atómica con generación de Vapor Frío.

Instrumento de Recolección de Datos

En la presente investigación no se empleó instrumento de recolección de datos.

Procedimiento o Metodología

Reactivos

Todas las soluciones fueron preparadas con reactivos de la más alta pureza disponible y de grado analítico. El agua empleada para la preparación de soluciones y lavado de material, fue doblemente destilada, desionizada con

resistividad específica de 18 MΩ/cm, obtenida en un sistema Millipore Milli - Q plus.

Limpieza de material

Todo el material de laboratorio utilizado fue lavado con solución jabonosa, enjuagado con potasa alcohólica, seguidamente dejado en ácido nítrico al 20 % v/v por 24 horas, y enjuagado repetidas veces con agua desionizada.

Preparación de los patrones

Se prepararon las siguientes soluciones patrón:

- ✓ Solución estándar de 1000 mg/L de mercurio, preparada a partir de óxido de mercurio (II) HgO, para lo cual se disolvió 1,080 g de óxido de mercurio en un volumen mínimo de ácido clorhídrico (HCl) (1:1). Se diluyó a 1 litro con agua desionizada.
- ✓ 100 mL de solución de 10 mg/L de mercurio, preparada mediante dilución del volumen apropiado de la solución de 1000 mg/L.
- ✓ 100 mL de soluciones de trabajo de 2, 4, 8 µg/L de mercurio, preparadas mediante dilución del volumen apropiado de la solución de 10 mg/L de mercurio en presencia de HCl 1 mol/L.

Soluciones de ácido clorhídrico (HCl)

Las soluciones de ácido fueron preparadas mediante dilución apropiada de los volúmenes correspondientes de HCl concentrado. Marca Riedel de Haen 37 %, $d = 1,19 \text{ g/mL}$.

Soluciones de borohidruro de sodio (NaBH_4)

Las soluciones de borohidruro sodio fueron preparadas diariamente a partir de NaBH_4 , marca Sigma 98,0 % de pureza. Para evitar la descomposición del reactivo, las soluciones fueron estabilizadas preparándolas en un medio de NaOH 0,25 % m/v.

Metodología de muestreo

Ubicación de los sitios de muestreo

La selección de los sitios de muestreo se hizo sobre la base de un reconocimiento previo de las refinerías petroleras. En consecuencia se decidió tomar muestras:

1. En San Juan de Los Cayos, ubicado en la Península de Paraguaná, allí se encuentra el centro de refinación producto de la fusión de las dos mayores refinerías, el complejo de Amuay y Cardón. (Figura 5).

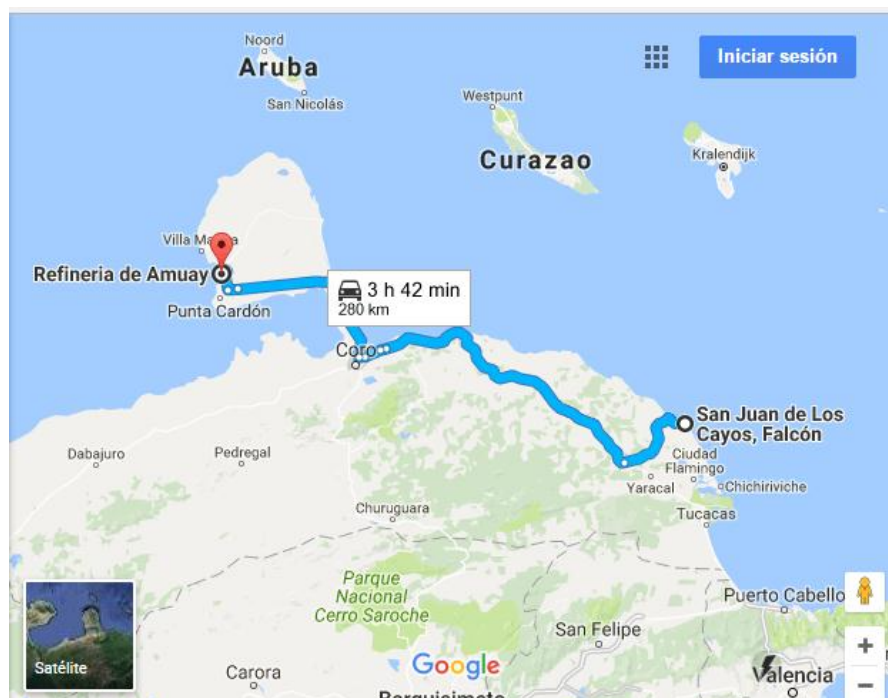


Figura 5. Ubicación satelital San Juan de Los Cayos - Complejo Paraguaná.

El Centro de Refinación Paraguaná y la Costa San Juan de Los Cayos se encuentran a una distancia de 280 kilómetros (km). Lo cual equivale en tiempo a 3 horas y 42 minutos en auto.

2. En el Parque Nacional Morrocoy (noreste del Golfo Triste), donde se encuentra ubicada la petroquímica de Venezuela (PEQUIVEN). (Figura 6).

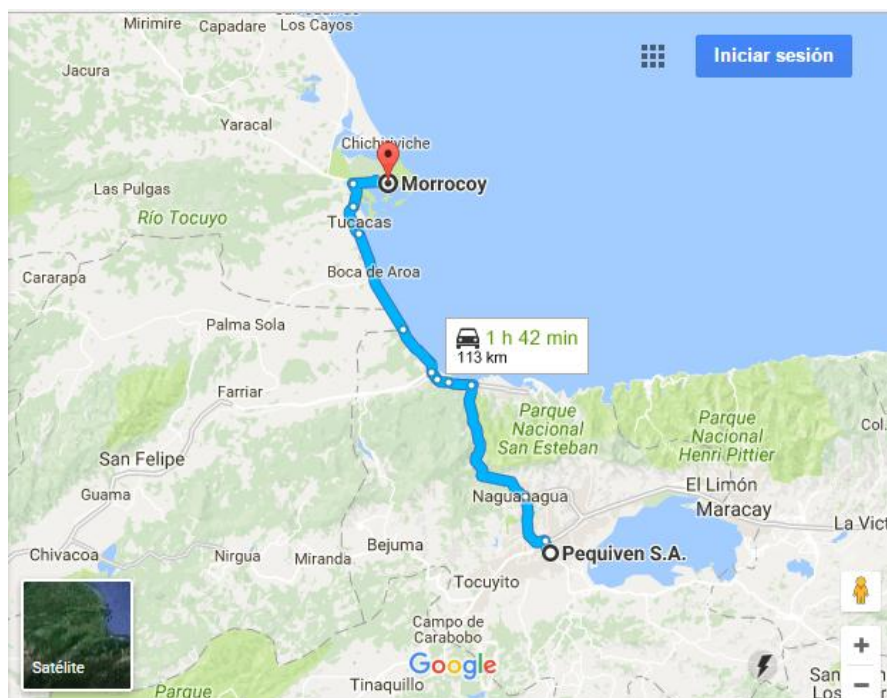


Figura 6. Ubicación satelital Parque Nacional Morrocoy - PEQUIVEN S.A.

El Parque Nacional Morrocoy se encuentra a 113 km de distancia de la petroquímica PEQUIVEN. En tiempo equivale a 1 hora, 42 minutos en auto.

Frecuencia de muestreo

En cada sitio seleccionado se realizó un único muestreo en mayo de 2015. El muestreo se llevó a cabo, escogiendo al azar la hora del día, preferiblemente cuando las condiciones climáticas apuntaban hacia marea baja. Todo esto, con el fin de recolectar de manera práctica las muestras de algas.

Toma y tratamiento de las muestras

Para la cuantificación de mercurio, las muestras se recolectaron al azar mediante buceo autónomo. La información referida para la identificación de las mismas se obtuvo mediante la selección de un informante calificado: el Dr. Jorge Barrios del Instituto Oceanográfico de Venezuela, Núcleo Sucre, Universidad de Oriente. Posteriormente las muestras se depositaron en bolsas de polietileno con cierre hermético, limpias y secas con capacidad de 250 g. Cada bolsa se enjuagó varias veces con agua en el respectivo sitio de muestreo y luego se procedió a su llenado. Luego, las muestras se almacenaron debidamente a una temperatura de 4 °C y se llevaron al laboratorio en un recipiente adecuado, allí se codificaron hasta el momento de su análisis.

Para el tratamiento de las muestras, se pesaron por triplicado 0,2 g de masa seca y 0,5 g de masa húmeda. Colocados en balones de digestión con capacidad de 100 mL, se añadieron 5 mL de HNO_3 , con posterior agitación. Fueron sometidos brevemente a 100 °C en una placa de calentamiento. Dejando en reposo por 12 horas.

Nuevamente se agregaron 5 mL de HNO_3 , más 5 mL de HClO_4 , se repitió el proceso de calentamiento hasta que se observó desprendimiento de vapores color café - rojizo que tornaron la solución de un tono amarillo. Se continuó el calentamiento hasta la eliminación de la materia orgánica. Este proceso se visualizó con la aparición de vapores blancos y decoloración de la solución.

Posteriormente se retiraron de la placa dejando enfriar. Luego se regresaron a la placa de calentamiento hasta evaporar por 20 minutos, controlando la temperatura de (120 – 180) ° C. Finalmente se dejaron en reposo, se filtraron y transfirieron a balones volumétricos de 50 mL

completando este volumen con agua desionizada. Además se preparó 100 mL de blanco de reactivo mediante dilución del volumen apropiado de ácido nítrico (HNO_3) al 20 % v/v y ácido perclórico (HClO_4) al 70 % v/v.

Instrumentación

El trabajo se realizó tomando las medidas de absorbancia en un Espectrofotómetro de Absorción Atómica **Perkin – Elmer** modelo 3100 Norwalk Ct USA, controlado mediante un programa Perkin – Elmer, modelo “3100 Enhanced Data Sistem”.

Como unidad de atomización se utilizó una celda de vidrio. Como fuente de radiación una lámpara de cátodo hueco de mercurio marca Varian. La longitud de onda empleada fue de 253,7 nm para el elemento en estudio (Hg), con un ancho de rendija para todas las medidas de 0,7 nm.

Sistema de flujo continuo utilizado

Los experimentos fueron realizados utilizando el sistema de flujo continuo mostrado en la Figura 7. Para propulsar los reactivos, se empleó una bomba peristáltica Ismatec - IPC de 8 canales. Los canales a través de los cuales se propulsó el analito, el ácido y el borohidruro, consistían en tuberías de TYGON 1,52 mm d.i. Los serpentines de reacción y mezclado se construyeron con tuberías de PTFE de 0,8 mm d.i.

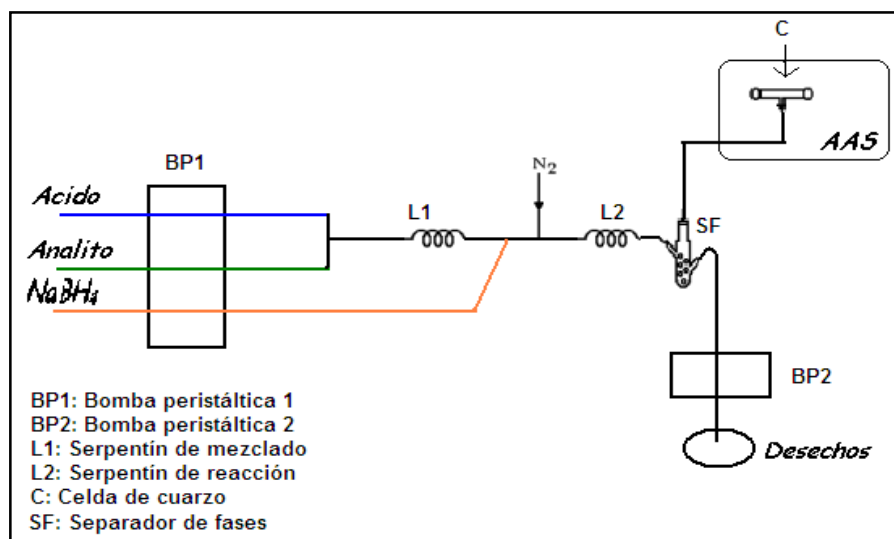


Figura 7. Sistema de Flujo continuo

Se utilizó un separador de fases gas – líquido, de 10 x 2,5 cm largo x cm d.i., con 49 mL de capacidad, hecho de vidrio en el laboratorio, tal y como se muestra en la Figura 8. Para eliminar los desechos de la reacción provenientes del separador de fases, se emplearon dos canales hechos con tuberías de TYGON de 2.06 mm d.i, conectadas a una bomba peristáltica Ismatec- IPC.

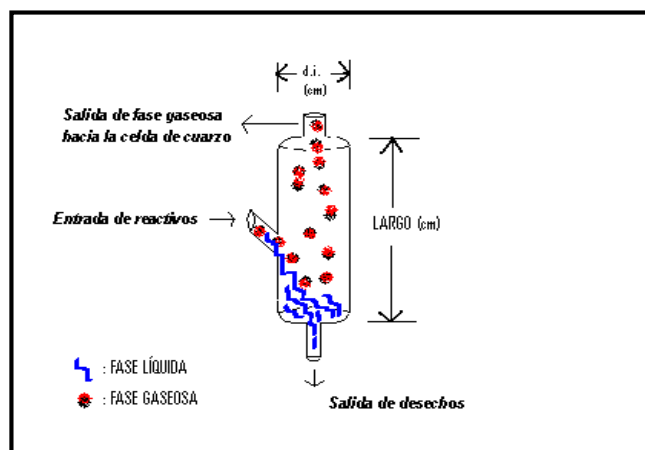


Figura 8. Separador de fases

Procedimiento desarrollado

Todos los experimentos fueron llevados a cabo utilizando el sistema de flujo continuo mostrado en la Figura 7. Inicialmente se realizó una etapa de lavado del sistema de flujo, propulsando por los canales de la bomba peristáltica 1 (BP₁), agua desionizada por espacio de 1 minuto. La bomba peristáltica 2 (BP₂) siempre permanece en funcionamiento con el fin de evitar que el líquido pase a la celda de vidrio. Luego de la etapa inicial de lavado, la bomba peristáltica 1 (BP₁) se detiene para introducir al sistema las soluciones de ácido clorhídrico 1 mol/L y analito (canales 1 y 2, flujo 6,0 mL/min), las cuales se mezclan en el serpentín L₁.

Por el tercer canal se introduce la solución de NaBH₄, la cual se mezcla y reacciona en el serpentín de reacción (L₂) con el flujo proveniente de L₁. En L₂ se generan las especies volátiles de mercurio, las cuales son separadas de la fase líquida y transportadas con la ayuda del gas de arrastre (Nitrógeno, 150 mL/min) hacia la celda de vidrio donde son atomizadas para luego medir la absorbancia de los átomos del analito.

Los desechos de la reacción son succionados por la BP₂ y llevados al recipiente de desechos. Luego que se han cumplido todas las etapas, se procede a lavar el sistema con agua desionizada, preparando el sistema para la introducción de una nueva solución. El procedimiento se realiza por triplicado para cada solución.

Diseño de Análisis

Según varios autores, los datos recolectados se pueden analizar por medio de enfoques cualitativos o cuantitativos. Específicamente si los datos se miden numéricamente y a través de modelos matemáticos el enfoque es cuantitativo.

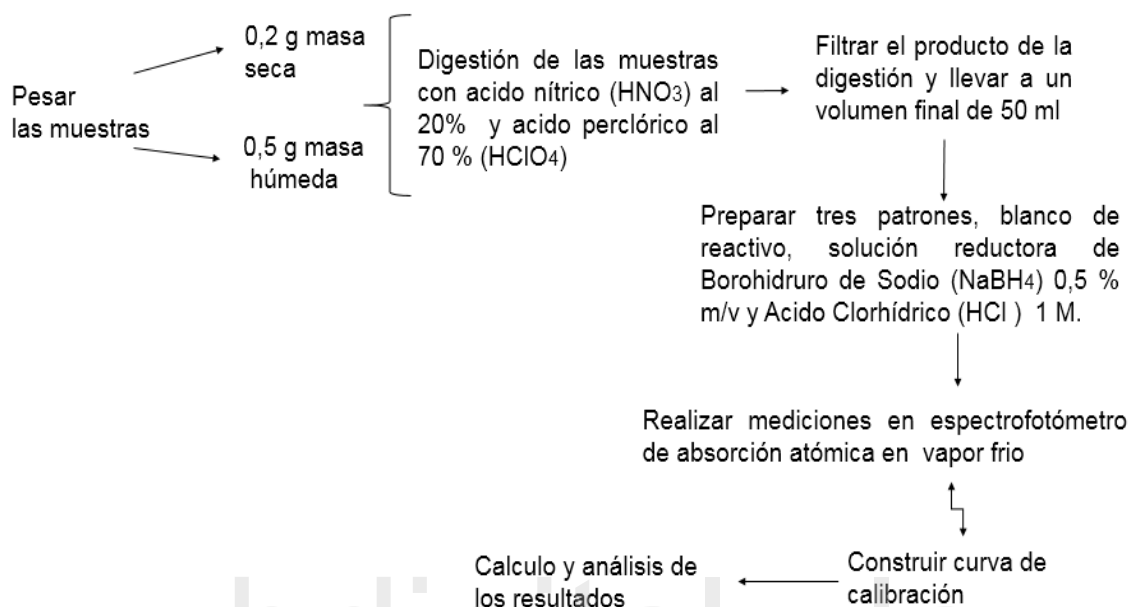
Mientras que si los datos obtenidos se expresan por descripción del evento el enfoque es cualitativo (Hernández, 2010; Palella & Martins, 2011).

En la presente investigación los datos obtenidos fueron analizados según la Ley de Lambert-Beer. La cual establece que la absorbancia de una solución es directamente proporcional a su concentración. Cumpliendo con esta ley se puede obtener una curva de calibrado preparando soluciones de diferentes concentraciones conocidas y determinar así la concentración de muestras problemas por medio de diferentes modelos matemáticos.

Sistema Estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el programa Originlab versión 7.0. Las concentraciones de mercurio se expresaron en medias $\pm$ desviación estándar ($X \pm DE$). Se aplicó la prueba “t” de Student para establecer las diferencias significativas entre las medias. Se tomó como índice de confiabilidad estadística el 95 % ($p < 0.05$). Asimismo, se realizó ANOVA de un factor, para evaluar las diferencias entre los promedios.

Camino Metodológico



CAPITULO IV

PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Optimización de parámetros en Generación de Vapor Frío

Los parámetros optimizados fueron la concentración del HCl, y la concentración del agente reductor NaBH_4 . La figura de mérito utilizada para la optimización de los parámetros experimentales fue la máxima sensibilidad expresada como absorbancia neta. Se procedió a la realización de la optimización de parámetros, en un pool de muestras. Para los patrones acuosos, los parámetros fueron optimizados en un trabajo previo realizado en el Laboratorio de Espectroscopia Molecular de la facultad de Ciencias en la Universidad de Los Andes (Rojas, 2012).

Efecto de la concentración de ácido clorhídrico

El efecto de la concentración de ácido clorhídrico sobre la señal analítica de mercurio se estudió variando la concentración de HCl dentro del rango 0,5 a 2 mol/L. La concentración de NaBH_4 se fijó en 0,5 % m/v. En la Figura 9 se muestran los resultados obtenidos para el pool de muestras. La señal analítica se hace máxima para un valor de concentración de HCl de 1,0 mol/L, luego de la cual experimenta una reducción significativa. Este comportamiento es explicado por (Plácido et al., 2005). Quienes hacen referencia a la formación de hidrógeno, cuando el HCl reacciona con el NaBH_4 , el cual es requerido para reducir a las especies de mercurio. Esto justificaría, el decaimiento de la señal analítica para altas concentraciones de HCl ($>1,0$

mol/L), debido probablemente al exceso de hidrógeno producido, ocasionando una posible dilución del analito ya en forma de vapor.

Se seleccionó 1,0 mol/L como concentración de compromiso de HCl, para la determinación de mercurio en las muestras.

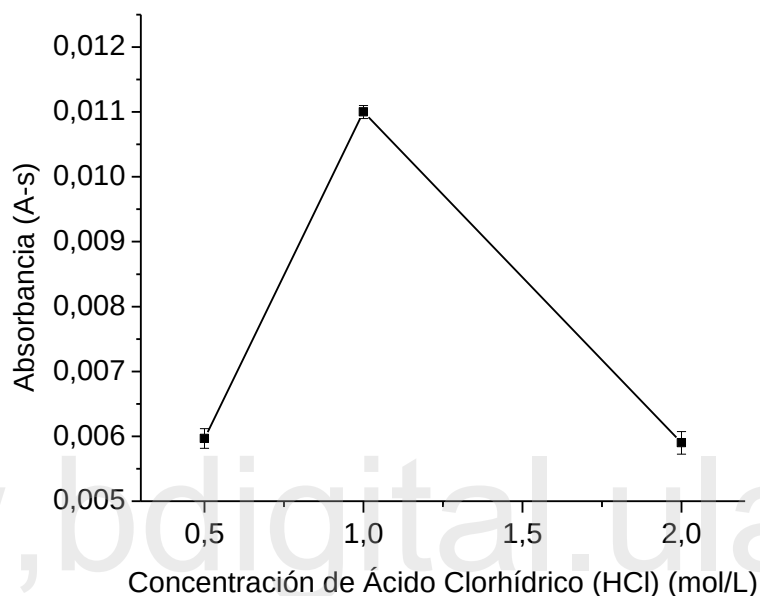


Figura 9. Efecto de la concentración de ácido clorhídrico sobre la señal analítica de Hg para un pool de muestras de algas.

Efecto de la concentración de borohidruro de sodio

La concentración de NaBH_4 necesaria para la generación de las especies volátiles de mercurio, se varió entre 0,25 y 1,0 % m/v, conteniendo cada una de estas soluciones, NaOH al 0,25 % m/v. Se fijó como concentración óptima de HCl 1,0 mol/L, para el pool de muestras.

En la Figura 10 se muestran los resultados obtenidos para la matriz en estudio (algas). Valores de concentración de NaBH_4 menores a 0,25 % m/v, son ineficientes para la generación de Hg^0 , la máxima señal se observa para

0,5 % m/v de NaBH_4 . Para concentraciones mayores a 0,5 % m/v de NaBH_4 , también es ineficiente el agente reductor, ya que la señal comienza a decrecer y hacerse irreproducible.

Para estudios posteriores, se seleccionó 0,5 % m/v como la concentración óptima de NaBH_4 , para la determinación de mercurio en las muestras de algas.

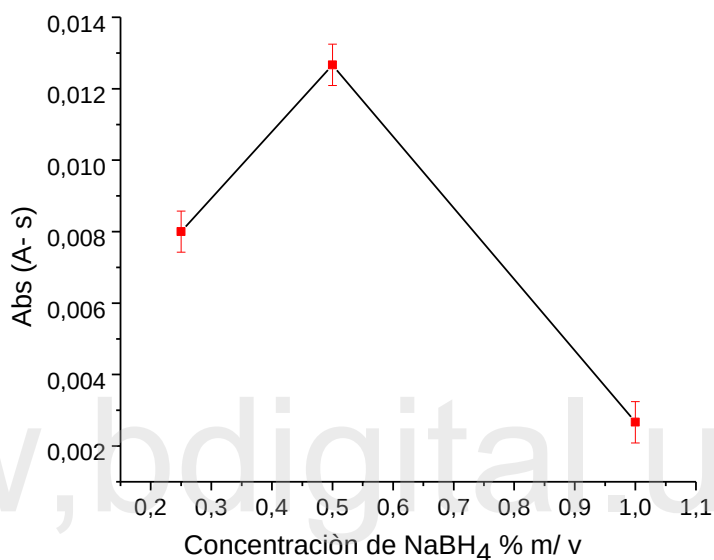


Figura 10. Efecto de la concentración de Borohidruro de sodio sobre la señal analítica de Hg para un pool de muestras de algas.

Análisis de resultados

En la Tabla 3 se pueden observar los mejores resultados obtenidos para cada uno de los parámetros optimizados en la generación de vapor frío de mercurio, en patrones acuosos (optimizados previamente) y en las muestra de algas (optimizados en este trabajo).

Cabe destacar el hecho de que para este estudio, se encontraron idénticas condiciones óptimas de compromiso para detectar al mercurio, tanto en patrones acuosos como en las muestras de algas.

Esto permite una calibración simple para determinar el mercurio en una muestra de alga, de manera rápida y eficaz.

Tabla 3. Condiciones óptimas de operación

Instrumentales	
Longitud de onda (nm)	253,7
Ancho de rendija (nm)	0,7
Corriente de lámpara HCL (mA)	6
Señal Analítica	Absorbancia
Generación de Vapor Frío en Línea	
Concentración de NaBH ₄ para la detección de Hg en patrones acuosos (% m/v)	0,5
Concentración de NaBH ₄ para la detección de Hg en la muestra (% m/v)	0,5
Flujo de NaBH ₄ para detección de Hg ²⁺ (mL/min)	6
Concentración de HCl en los patrones acuosos (mol/L)	1,0
Concentración de HCl en la muestra (mol/L)	1,0
Flujo de patrones y/o muestra (mL/min)	6
Flujo de gas de purga, N ₂ (mL/min)	150
Tamaño del separador de fases, largo x d. i. (cm)	10x2,5
Volumen del separador de fases (mL)	49
Volumen de muestra (mL)	15
Tiempo de análisis / muestra (min)	3

Estudio de interferencia

Con el propósito de observar si existían interferencias de matriz tanto para masa seca como para masa húmeda de las muestras de algas, se realizó un estudio de adición de estándar (Figuras 11 y 12), para la cuantificación de mercurio. Se realizó un análisis estadístico (t-Student, $P = 0,05$) y se compararon las pendientes de los gráficos de calibración respectivos (Tabla 4), empleando las condiciones óptimas presentadas en la Tabla 3. Se observó que no existían diferencias significativas entre dichas pendientes, lo cual puso de manifiesto que la matriz de las muestras de algas no interfiere en la determinación de mercurio en las mismas, y que es posible realizar la calibración con patrones acuosos de mercurio.

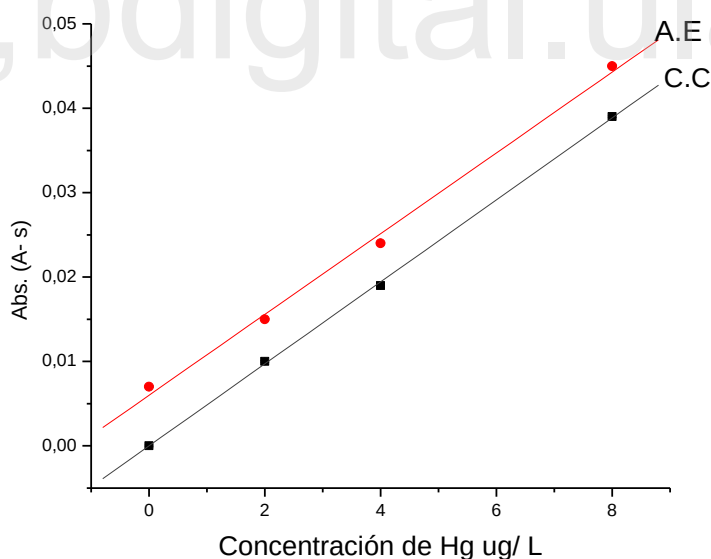


Figura 11. Curva de calibración con patrones acuosos y adición de estándar para mercurio en un pool de muestras (masa húmeda).

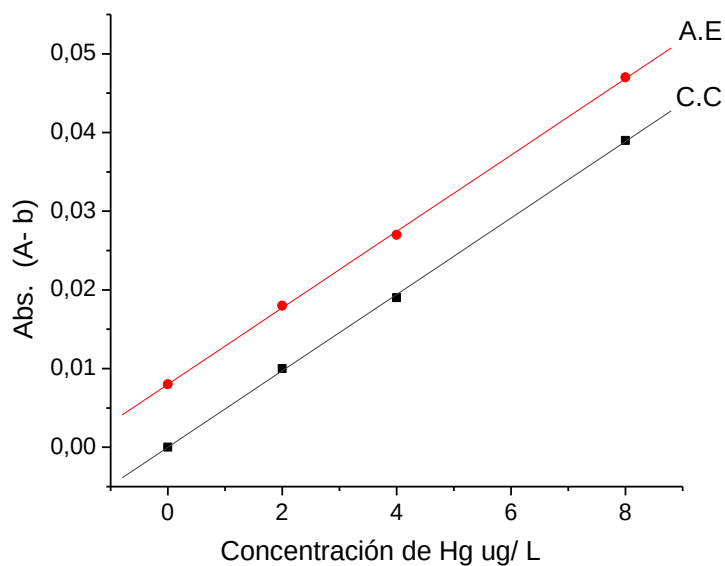


Figura 12. Curva de calibración con patrones acuosos y adición de estándar para mercurio en un pool de muestras (masa seca).

Tabla 4. Prueba de significancia

	m (CCS)	m (CAE)	t-Student teórica	t-Student experimental	F- teórico	F- experimental
Masa seca	0,0048	0,0043	2,45	1,87	9,28	1
Masa húmeda	0,0048	0,0011	2,45	0,38	9,28	8,83

m = pendiente, **CCS** = curva de calibración sencilla, **CAE** = curva de adición de estándar.

Caracterización analítica del sistema de flujo continuo

En la Tabla 5 se puede apreciar que el límite de detección LOD (definido como la concentración de mercurio que produce una señal analítica por encima del blanco, igual a tres veces la desviación estándar del mismo) obtenido es: 0,13 µg/L. La sensibilidad m (expresada como la pendiente de la curva de calibrado), fue de 0,0048 L/µg. Se obtuvo buena precisión (dada por la desviación estándar relativa RSD %, $n = 10$, para un patrón de 4 µg/L de mercurio) siendo 0,57 %.

Tabla 5. Características analíticas para la determinación de mercurio en patrones acuosos

$A = b + m [\text{Hg}]$	r	LOD (µg/L)	LOQ (µg/L)	RSD (%)
$A = 0,000 + 0,0048 [\text{Hg}]$	0,999	0,130	0,430	0,570

A es la absorbancia; **b** es el intercepto; **m** es la pendiente; **[Hg]** es la concentración de mercurio en µg/L.

r es el coeficiente de correlación

LOD es el límite de detección, calculado como $3SD/m$.

LOQ es el límite de cuantificación, calculado como $10SD/m$.

RSD (%) es la desviación estándar relativa para 4 µg/L de Hg.

Exactitud del método

Estudios de recuperación

La exactitud del método propuesto se evaluó mediante estudios de recuperación, añadiendo mercurio a un pool de masa seca y húmeda de las muestras de algas, y empleando las condiciones óptimas presentes en la Tabla 3. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 6, en la cual se puede observar que los porcentajes de recuperación varían entre 82,0 y 100,0 %, lo que indica que se logra la recuperación cuantitativa del mercurio presente en las muestras.

Tabla 6. Porcentaje de recuperación para la determinación de mercurio en algas marinas

Concentración de mercurio adicionado (ug/L)	2	4	8
Recuperación (%) masa seca	90,00 ± 0,40	94,70 ± 0,35	97,40 ± 0,20
Recuperación (%) Masa húmeda	90,00 ± 0,38	100,00 ± 0,15	82,00 ± 0,49

Aplicación de la metodología desarrollada para la determinación de mercurio en algas marinas

La metodología desarrollada se aplicó a la cuantificación de mercurio

en 2 muestras de algas, *Sargassum sp.* y *Ulva fasciata*. La toma, conservación y preparación de las muestras se llevó a cabo como se describe en el CAPÍTULO III (página 41).

La determinación del analito en las muestras de algas, se realizó utilizando las condiciones óptimas de operación presentes en la Tabla 3. Los resultados se muestran en las Tablas 11 y 12, en donde se pueden observar las absorbancias obtenidas para cada análisis individual, así como las concentraciones de mercurio correspondientes a dichas absorbancias. Calculadas dichas concentraciones, a través de la ecuación de calibración sencilla obtenida.

Por otra parte, mediante un análisis estadístico sencillo, como lo es el ANOVA de una vía, para $P = 0,05$, se pudo determinar que si existen diferencias significativas entre las medias involucradas en el estudio:

1. Comparación entre masa seca y húmeda para un mismo tipo de alga:

Media I: concentración promedio de mercurio en una muestra de masa seca de alga *Ulva fasciata*.

Media II: concentración promedio de mercurio en una muestra de masa húmeda de alga *Ulva fasciata*.

Conclusión: Si existen diferencias significativas

Media III: concentración promedio de mercurio en una muestra de masa seca de alga *Sargassum sp.*

Media IV: concentración promedio de mercurio en una muestra de masa húmeda de alga *Sargassum sp.*

Conclusión: Si existen diferencias significativas

2. Comparación entre masa seca y húmeda para los dos tipos de algas:

Media V: concentración promedio de mercurio en una muestra de masa seca de alga *Ulva fasciata*.

Media VI: concentración promedio de mercurio en una muestra de masa

seca de alga *Sargassum sp.*

Conclusión: Si existen diferencias significativas

Media VII: concentración promedio de mercurio en una muestra de masa húmeda de alga *Ulva fasciata*.

Media VIII: concentración promedio de mercurio en una muestra de masa húmeda de alga *Sargassum sp.*

Conclusión: Si existen diferencias significativas.

Tabla 7. Respuesta instrumental de mercurio en las muestras

Réplicas de la muestra	U. fasciata Masa seca (abs)	U. fasciata Masa húmeda (abs)	Sargassum sp Masa húmeda (abs)	Sargassum sp Masa seca (abs)
1	$0,008 \pm 0,86 \times 10^{-4}$	$0,005 \pm 0,58 \times 10^{-4}$	$0,007 \pm 0,60 \times 10^{-4}$	$0,009 \pm 0,9 \times 10^{-4}$
2	$0,009 \pm 0,86 \times 10^{-4}$	$0,006 \pm 0,58 \times 10^{-4}$	$0,008 \pm 0,60 \times 10^{-4}$	$0,010 \pm 0,9 \times 10^{-4}$
3	$0,010 \pm 0,86 \times 10^{-4}$	$0,006 \pm 0,58 \times 10^{-4}$	$0,007 \pm 0,60 \times 10^{-4}$	$0,010 \pm 0,9 \times 10^{-4}$
Abs. Promedio	$0,009 \pm 0,86 \times 10^{-4}$	$0,006 \pm 0,58 \times 10^{-4}$	$0,007 \pm 0,60 \times 10^{-4}$	$0,010 \pm 0,9 \times 10^{-4}$

Tabla 8. Concentración de mercurio en algas marinas

	U. fasciata Masa seca	U. fasciata Masa húmeda	Sargassum sp Masa húmeda	Sargassum sp Masa seca
Absorbancia promedio	$0,009 \pm 0,86 \times 10^{-4}$	$0,006 \pm 0,58 \times 10^{-4}$	$0,007 \pm 0,60 \times 10^{-4}$	$0,010 \pm 0,9 \times 10^{-4}$
Concentración (ug/L)	$1,80 \pm 0,01$	$1,20 \pm 0,01$	$1,40 \pm 0,01$	$2,00 \pm 0,01$
Concentración (ug/g)	$0,45 \pm 0,01$	$0,12 \pm 0,01$	$0,14 \pm 0,01$	$0,50 \pm 0,01$

Niveles de mercurio encontrados en algas

En la Figura 13 se puede observar la concentración de mercurio encontrada en las algas en estudio. Es notable que la mayor concentración de mercurio se encontró en la *Sargassum sp.* masa seca ($0,5 \pm 0,01$) $\mu\text{g/g}$, mientras que la *Ulva fasciata* masa seca reportó $0,45 \pm 0,01$ $\mu\text{g/L}$ de mercurio. También se puede observar que la desecación de las muestras en ambos tipo de algas aumenta la concentración de mercurio, proporcionando niveles mayores debido a la eliminación de la humedad presente.

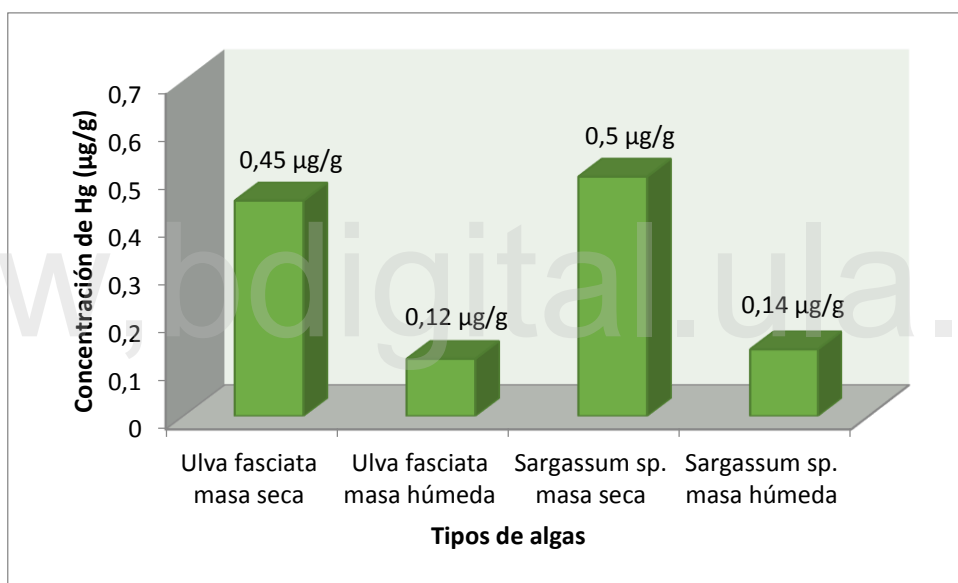


Figura 13. Comparación de niveles de mercurio encontrados en las algas en estudio

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

Luego de analizar y discutir los resultados se da respuesta al objetivo general. Explorando los niveles de mercurio en las algas *Sargassum sp* y *Ulva fasciata* colectadas en el Parque Nacional Morrocoy y la Costa San Juan de Los Cayos en mayo de 2015.

Se acepta la hipótesis afirmativa. Las algas marinas *Ulva fasciata* y *Sargassum sp*, presentan niveles de mercurio por lo tanto, son buenos bioindicadores de contaminación mercurial. Permitiendo generar soluciones orientadas a disminuir y evitar la contaminación con este metal tóxico.

El muestreo en las zonas estudiadas no fue suficientemente amplio para dar un resultado generalizado a cerca de los niveles de mercurio. Sin embargo la metodología empleada implicó un sistema rápido, sencillo y selectivo para la determinación de mercurio. Se obtuvieron resultados satisfactorios, ya que al realizar la optimización de los reactivos de trabajo se lograron las condiciones ideales; además de ello los ensayos de recuperación lograron demostrar la ausencia de interferentes al momento de realizar la determinación.

Se demuestra que la desecación de las algas concentra los niveles de mercurio al eliminar la humedad. Indiscutiblemente las algas son una buena matriz para realizar determinaciones de mercurio. El tratamiento previo realizado con ácido nítrico y ácido perclórico favorece y brinda las condiciones adecuadas para la determinación por Espectrofotometría de Absorción Atómica por Generación de Vapor Frío.

Se encontraron diferencias significativas entre los valores de mercurio presentes tanto en alga *Sargassum sp.* como en la *Ulva fasciata*, siendo éstos mayores en la *Sargassum sp.*

www.bdigital.ula.ve

Recomendaciones

- ✓ Para efecto de posteriores investigaciones ubicar mayores puntos de muestreo en la zona a estudiar.
- ✓ De acuerdo a los datos arrojados por los ensayos de optimización, es conveniente en las soluciones de trabajo emplear borohidruro de sodio al 0,5 % m/v y ácido clorhídrico 1 mol/L para obtener resultados confiables.
- ✓ Se propone realizar previa desecación de la muestra para concentrar la cantidad de mercurio presente, tomando en cuenta que estas reducen su peso inicial $\frac{3}{4}$ partes.
- ✓ Se sugiere en este tipo de determinaciones realizar pesadas de 0,5 gramos por muestra problema.
- ✓ El proceso de digestión es idóneo en este tipo de matrices; permitiendo la rápida eliminación de la materia orgánica.

BIBLIOHEMEROGRAFÍA

- Abbott, A. (1996). Estudio etnobotánica de algunas algas marinas. **Jardín Botánico Tropical Nacional**. (4ta Ed). Hawái – Playa.
- Ajisaka, T., T. Noro, & T. Yoshida. (1995). Zygo carpic *Sargassum* species (subgenus *Sargassum*) from Japan. **Taxonomy of economic seaweeds with reference to some Pacific species**, California Sea Grant College Program, La Jolla, California, 5, 11-44.
- Álvarez, O.N. & Peña, E. (2004). Alternativas de Monitoreo de Calidad de Aguas: Algas como Bioindicadores. **Revista de Ciencia y Tecnología**, 2, (4), 513- 516. Recuperado el 02 de Julio de 2013 de la base de datos Google Académico.
- Andrés, A.J. (2015). **Plantas leñosas ornamentales: control de enfermedades producidas por hongos y cromistas**. Editorial Paraninfo. 105.
- Arias, G. F. (2004). **El proyecto de investigación**. (4ta ed). Caracas – Venezuela. Editorial episteme.
- Baker & Walter. (2000). **Organismos indicadores de la calidad del agua y de la contaminación**. México: Editorial Reverte S.A.
- Barbout, (1999). **Manual de contaminación marina y restauración del litoral**. Barcelona- Madrid: Editorial Mundi Prensa.
- Bashan, (2010). Microalgas inmovilizadas para la eliminación de contaminantes. **Revista Tecnológica BioRes**, 10, 1611-1627.
- Blesa, M. A. & Castro, G. (2015). Historia natural y cultural del mercurio. **Asociación Argentina para el Progreso de las Ciencias** .1a ed. Buenos Aires
- Bryan, G.L (1992). Polución medioambiental. **Revista Ecológica**, 76, 89-131.
- Cabrera, V. R (2007). Mercurio en aguas marinas posibles fuentes de polución. **Ars farmacéutica**, 48, 37-53.

- Cano, M. (2008). Bases biológicas de *Ulva fasciata* Delile, (Chlorophyta) para su posible explotación al Oeste de La Habana, Cuba. ***OceanDocs Repository of ocean publications***.
- Cazón. (2012). Metales pesados totales y arsénico en el agua. ***Revista Scielo***, 28, 2-4.
- Cogua, P. Campos, C. Néstor, H. & Duque, G. (2012). Concentración de mercurio total y metilmercurio en sedimento y seston de la Bahía de Cartagena, Caribe Colombiano. ***Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras - INVEMAR***, 41 (2), 267-285. Obtenido el 06 de Octubre de 2016 desde <http://www.scielo.org.co/scielo>
- Colin, B. (2004). ***Introducción al estudio de la contaminación del suelo por metales***. (2da Ed). Yucatán – México: Editorial Excelencia.
- Contaminación marina, Recuperado el 20 de mayo de 2013. ***Convención de las Naciones Unidas sobre el Derecho del Mar*** (UNCLOS, 1982).
- Cuizano, N.A & Navarro, A.E. (2007). Equilibrio ácido-base de algas marinas del litoral peruano elucidada su alta afinidad por contaminantes ambientales. ***Revista de Química Perú***, 73, (2), 85-93. Recuperado
- Díaz, A. Arias, J. Gelves, G. Maldonado, A. Laverde, D. Pedraza, J. & Galvao, A.C. & Corey, G. (1987). Mercurio serie vigilancia 7. ***Centro panamericano de ecología humana y salud***. Organización panamericana de la salud. Organización Mundial de la salud. Metepec, México. Obtenido el 06 de Octubre de 2016 desde <http://www.bvsde.paho.org>
- Gaona (2004). Mecanismo de Biosorción de metales pesados por algas marinas. ***Instituto de biotecnología***, 87, 452-460.
- García, G. (2010). ***Determinación de mercurio por Generación de Vapor Frío y Detección vía Absorción y Fluorescencia Atómica***. Manuscrito no publicado. Química analítica. Universidad Simón Bolívar, 3-6.

- Graeme, K.A. & Pollack, C.V. (1998). La toxicidad de metales pesados, Parte I: El arsénico y mercurio. **Revista de emergencias médicas**, 16, 45-56.
- Guarnera, E.A. (2013). *Aspectos esenciales de la interfase de las Zoonosis parasitarias*. (1era Ed). Buenos Aires- Argentina: Editorial Dunken.
- Guiry, M.D. & Guiry, G.M. (2016). *AlgaeBase. World-wide electronic publication*, National University of Ireland, Galway. Recuperado de <http://www.algaebase.org>; searched on 15 October 2016.
- Harada, M. (1978). Congenital Minamata disease: Intrauterine methylmercury poisoning. **Clinical and Molecular Teratology**, 18, 285–288.
- Hernández, R.I. Ruth, M.A. Salazar, A.M & Rivera, A.A. (2012). **Remoción de metales pesados (Fe, Cr) en agua: Mediante cáscara de huevo. Remoción de Hierro y Cromo en solución acuosa**. (1era Ed). México: Editorial Reviews.
- Hernández, S. (2010). **Metodología de la Investigación**. (3era Ed). Caracas-Venezuela. Editorial McGraw-Hill.
- Hurtado, J. (2010). **Metodología de la Investigación**. (4ta Ed). Bogotá-Colombia. Editorial Sygal- Quiron.
- Imani, S. Rezaei-Zarchi, S. Borna, H. Javid, A. Zand, A. & Abarghouei, H. (2011). Biorremediación de metales pesados por *Dunaliella*. **Revista Latinoamericana biotecnología ambiental algal**, 13, 2775-2780.
- Jaramillo F, Zapata O & Marulanda L. (2015). Fitorremediación de mercurio a partir de *Elodea sp.* **Ingenierías USB Med**, 6, (2), 42-45. Recuperado el 20 de noviembre de 2015.
- Kirk y Othnmer (2004). La contaminación por mercurio. **Gaceta Ecológica**, 10, (72), 21-34. Recuperado el 08 de Febrero de 2016 de la base de datos Google Académico.
- Li, P. (2008). Mercury exposures and symtoms is smelting workers of artisanal mercury mines in Wuchuan, Guixhou, China. **Environmental Research**, 107, 108- 114.

- López, A. (2011). *Sargassum sp.* Catálogo de Especies 8B. Recuperado el 15 de Octubre de 2016 de <https://elaguda8b.wordpress.com/catalogo/>
- Littler, D. S. & Mark M., (2000). Las plantas del arrecife del Caribe. **Revista Medioambiental y tecnológica**, 3, 120-124
- Magruder, W.H., Hunt, H. (1979). Algas generalidades. **Publicación Oriental**, 6, (3), 56-74.
- Martínez, G. X. (2004). Mercurio como contaminante global. **Departamento de Química Analítica**, 1, (2), 9-20. Recuperado el 20 de Febrero de 2016 de la base de datos Google Académico.
- Martínez, M. & Velásquez, M. (2013). Distribución de mercurio en los sedimentos superficiales del delta del río Mitare, estado Falcón. **Revista venezolana ciencias de la tierra**, 44, 25-32.
- Molina, N.A. & Nelrrama, M.B (2009). Algas. Recuperado de <http://algas2iam-algas.blogspot.com>
- Organizacion Mundial de la Salud, (2005, Abril). Contaminantes en la alimentación: Mercurio. **Boletín electrónico N° 1 Salud y Medio Ambiente**.
- Oswald, W. (1988). Tratamiento de microalgas y aguas residuales. **Universidad de Cambridge Press**, 305-328.
- Paisio, González, Talano & Agostini, (2012). Remediación biológica de Mercurio. **Revista Latinoamericana Biotecnología Ambiental Algal**. 3, (2) ,119-146.
- Palella, S., & Martins, F. (2011). **Metodología de la investigación cuantitativa**. Caracas- Venezuela. editorial Fedupel.
- Piña, X. Marcó, L. M. Poleo, G. Rojas, J. & Torres, G. (2012). Optimización de un método analítico para la determinación de mercurio en muestras ambientales por espectrometría UV-Visible. **Avances en Química**, 7(3), 171-180. Obtenido el 06 de Octubre de 2016 desde www.saber.ula.ve
- Plácido et. Al, (2005). **Determination of inorganic and total mercury in biological samples treated with tetramethylammonium hydroxide**

by cold vapour atomic absorption spectrometry using different temperatures in the quartz cell, J. Anal. At. Spectrom., **20** (2005) 289-294.

Plaza & Valdes. (1999). Diccionario de hidrología y ciencias afines. **Instituto de biología** UNAM, pp. 216.

Plaza, J. C (2012). Remoción de metales pesados empleando algas marinas. **Universidad Nacional de la Plata Facultad de Ciencias Exactas**.
Obtenido el 06 de Octubre de 2016 desde <http://sedici.unlp.edu.ar/>

Rodriguez, E.R (2009). ***Evaluación de Algas Pardas (Sargassum sp) para la bioadsorción de iones Cu²⁺ y Ni²⁺ en Solución Acuosa***. UDO Space Repositorio Institucional de la Universidad de Oriente, 2, (9), 20-55. Recuperado el 3 de abril de 2013 de la base de datos Google Académico.

Rodríguez, H. (2013) Minera y Petrolera. Recuperado de <http://mineraypetrolera.blogspot.com>

Rodriguez, M.E. (1991). Catálogo de las algas marinas bentónicas de la costa temperada del Pacífico de Sudamérica. En M.E. Rodriguez (Ed.), ***Monografías biológicas 5***. Fac. De Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, 346- 348.

Rodriguez, M.T. 2009. ***Caracterización por espectrofotometría de diferentes tinturas de Caléndula officinalis***. Ciudad de México. Escuela nacional de medicina y homeopatía. 2

Rojas, E. (2012). ***Determinación de mercurio orgánico e inorgánico en sangre completa***. Editorial Académica Española, 10, 57-83.

Romero, G & Meléndez W. (2013). Caracterización geoquímica de los suelos asociados a distintas especies de mangle de la zona oeste del Golfo de Coro y noreste de la Península de Paraguaná, estado Falcón. ***Revista Venezolana Ciencias de la Tierra***, 44, 25-32.

- Seoáñez, C. M. (1999). ***Ecología Industrial: Ingeniería del Medio Ambiente Aplicada al Medio Natural Continental***. 2da. (Ed). Mundi- Prensa. Madrid.
- Seoanez, C.M. (2000). ***Tratado de reciclado y recuperación de productos de los residuos***. (Edición Mundi-Prensa). Madrid- España: Editorial Aedos.
- Seolato, (2009). Eliminación de níquel (II) a partir de soluciones acuosas por biomasa filipéndula *Sargassum* en múltiples ciclos de adsorción y desorción. ***Revista de Ingeniera***, 1, (2) ,15-45. Recuperado el 25 de septiembre de 2013 de la base de datos Google Académico.
- Shiguelo, E., Susa, M., Ninomiya, T., Imamura, K., & Kitamura, T. (2007). Minamata disease revisited: an update on the acute and chronic manifestations of methyl mercury poisoning. ***Journal of the neurological sciences***, 262(1), 131-144.
- Smith, Michael & Shin. (1995). Fotosíntesis y reproducción de *Ulva fasciata* y *Enteromorpha flexuosa*. ***Revista Ecológica***, 125, 229-237.
- Treviño, R.J. (1971). ***Webster's Third New International Dictionary***. USA, III, pp. 2077.
- Vallejo, K. F. (2008). ***Estudio de la Adsorción de Cd (II) y Pb (II), usando como adsorbente la Ulva lactuca (Lechuga de mar)***. UDO Space Repositorio Institucional de la Universidad de Oriente, 2, (10), 09-33. Recuperado el 3 de abril de 2013 de la base de datos Google Académico.
- Volesky, B. (1994). Advances in biosorption of metals: Selection of biomass types. ***Microbiology Reviews***. 14, 291- 302.
- Walsh, (1972). ***Efectos de los herbicidas sobre la fotosíntesis y el crecimiento de las algas unicelulares marino***. (1era Ed). Cali-Colombia: Editorial Salvat.

Welz, B & Sperling, M. (1999). ***Atomic Absorption Spectrometry***, Third Edition, Editorial Wiley-VCH, 479-481.

[www,bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

ANEXOS

Cálculo de la t-Student

Se utilizó este método para comparar las pendientes de las curvas de calibrado sencillo y adición de estándar utilizando las siguientes ecuaciones:

$$F_{\text{experimental}} = \frac{(S_1)^2}{(S_2)^2}$$

Donde: $S_1 > S_2$

S_1 = Desviación estándar de la pendiente 1

S_2 = Desviación estándar de la pendiente 2

$$F_{\text{teórico}} = \begin{cases} (n - 1) \text{ para el menor valor de } S^2 \\ (n - 1) \text{ para el mayor valor de } S^2 \end{cases}$$

Este valor de $F_{\text{teórico}}$ se localiza en una tabla reportada en la literatura. Cuando $F_{\text{teórico}} > F_{\text{experimental}}$, no hay diferencias significativas entre las desviaciones de las pendientes, y para el cálculo de $t_{\text{experimental}}$ se emplea cualquiera de las dos como desviación estándar.

$$t_{\text{experimental}} = \frac{|m_2 - m_1|}{S \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

Donde:

m_2 = pendiente de la adición de estándar

m_1 = pendiente de la recta de calibrado sencilla

S = desviación estándar

n_1 = N° puntos de la recta de calibrado sencilla

n_2 = N° puntos de la adición de estándar

$$t_{\text{teórico}} = \text{grados de libertad} = n_1 + n_2 - 2$$

Este valor de $t_{\text{teórico}}$ se localiza en una tabla reportada en la literatura. Cuando $t_{\text{teórico}} > t_{\text{experimental}}$ no hay diferencias significativas entre las pendientes de las dos rectas. Las pequeñas diferencias que puedan existir entre los métodos de calibración normal y adición de estándar, son posiblemente producto de errores indeterminados o fortuitos.