

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA



**“Determinación de los Niveles de Mercurio Orina en los
Niños de la Población de El Callao,
Estado Bolívar, Venezuela.”**

Trabajo Especial de Grado
Presentado ante la Ilustre
Universidad Central de Venezuela
por el Br. Manuel Alejandro Matos
Peña, para optar al título de
Licenciado en Química.

Caracas, Octubre del 2010.

Resumen

El mercurio es un metal tóxico bajo cualquiera de sus formas: mercurio elemental (Hg^0), mercurio inorgánico (I-Hg) o mercurio orgánico (O-Hg). Los efectos del mercurio sobre la salud van a depender de la magnitud de la exposición que es dependiente del tiempo y la dosis, especie mercurial, la vía de entrada al organismo y de la sensibilidad propia de cada individuo, sin embargo los niños son los individuos en los cuales, se pueden manifestar un mayor efecto en vista de que se encuentran en etapas de crecimiento. El mercurio independientemente de la forma en que entre en contacto con el organismo puede causar nefrotoxicidad y neurotoxicidad. El nivel de exposición a largo plazo se evidencia en la orina, ya que el mercurio es excretado del cuerpo alrededor de 10 días después de su absorción o acumulación en los riñones y otros tejidos. Entre las actividades humanas que propician una exposición a largo plazo se encuentra la minería artesanal del oro, en la cual se libera elevadas cantidades de mercurio al medio ambiente. Esta tipo de minería es común en poblaciones cercanas a las zonas donde se explota el oro con fines comerciales, como la población de El Callao, en el Estado Bolívar, Venezuela. Por esta razón en el presente trabajo nos hemos propuesto, evaluar el impacto que esta actividad puede tener en la población infantil de El Callao, Edo. Bolívar. Para ello, se realizó una encuesta epidemiológica para conocer los grados de exposición de los niños tanto a las fuentes primarias de exposición al mercurio, así como aquellas que son producto del consumo de alimentos y medicamentos. Por otra parte, se determinaron los niveles de concentración de Hg por gramo de creatinina en muestras de orina de 24 horas en niños que estudian en 4 instituciones educativas pertenecientes al casco histórico de El Callao, en el estado Bolívar en Venezuela. Se encontraron un valores promedio de $8,21 \mu\text{g Hg/g creat}$, un valor de mediana de $1,86 \mu\text{g Hg/g creat}$ y una desviación estándar de $16,66 \mu\text{g Hg/g creat}$, el rango obtenido de valores de concentración de las muestras fue de $(0,08-90,80) \mu\text{g Hg/g creat}$. Las pruebas estadísticas indicaron que existen diferencias significativas al 95% de

confianza entre el valor de la mediana de concentración de Hg y el valor del promedio de concentración de Hg, lo cual indica que no existió una distribución normal de los valores.

No se encontraron diferencias significativas cuando se relacionaron las medianas de las concentraciones de Hg con variables como la edad, el sexo y el tiempo de residencia en El Callao. Se encontró una tendencia a la disminución de la concentración de Hg por gramo de creatinina a medida que aumentaban las distancias entre la vivienda de habitación de los niños y las posibles fuentes de exposición como son los molinos, minas, joyerías y talleres. También se encontró que los niños con padres cuya profesión es “joyeros” , presentan mayores niveles de concentración de Hg que los niños que tienen padres molineros y estos a su vez tienen valores mayores de concentración que los niños que tienen padres mineros. Por último se encontraron mayores concentraciones de mercurio en aquellos niños cuyos hogares son utilizados por sus padres para la quema de amalgamas, y niños que acompañan a sus padres a los molinos.

Agradecimientos

Inicialmente me gustaría agradecerle a Dios por haberme dado salud durante toda mi carrera y permitirme alcanzar unos de los más grande sueños de toda mi vida.

A mi familia quien siempre me ha apoyado, principalmente a mi mamá (Milagros Peña) y a mi abuela, a mis hermanos (Miguel, Mónica y Geomar), a mi Tio (José Alfonzo) y a mis primos entre todos ellos en especial a Lince Hernandez, Nomar y Christopher.

A la Universidad Central de Venezuela, y al Centro de Química Analítica (CQA) por prestarnos todas sus instalaciones, y a la facultad de Farmacia, específicamente en el la mención de toxicología por apoyarnos en todo lo que necesitábamos durante la realización de este trabajo.

A la profesora Nereida Carrión quien con sus continuos regaños, pero con sus palabras de apoyo siempre nos brindó protección bajo su abrigo, tanto a mí como a mis otros compañeros de muestreo. También al profesor Miguel Murillo quien siempre estuvo ahí en los momentos más cruciales para extendernos su mano y regalarnos una parte de su infinito conocimiento. A nuestra “maestra” (Profesora Gladys Venegas) que fue más que una profesora, fue una gran aliada en todo lo que correspondía a información adicional y de quien obtuvimos una muy valiosa amistad.

A los profesores del CQA principalmente al profesor Gustavo Pérez, el profesor Luis Gómez y el profesor José Chirinos, quienes siempre estaban dispuestos a ayudarme en cualquier cosa académica. Por otro lado también me gustaría agradecer a la profesora Lola de Lima quien siempre confió hasta el final en mis conocimientos.

A mi Angie, que ha sido como un ángel que siempre me ha dado esperanzas, este aporte fue muy importante para la realización de esta tesis.

A Mercedes Rosales a quien le debo gran parte de mi éxito porque gracias a ella yo soy quien soy en los actuales momentos, es mi ejemplo a seguir y quien marca el sendero del futuro.

A David Naranjo por enseñarme a trabajar como un químico analítico y llevar mis conocimientos prácticos más allá de lo esperado.

A los técnicos del laboratorios de docencia (Carlos Camargo y Samuel), así como a Luis Veliz (“Caripito”) quienes me ayudaron en lo posible a la recolección de los recipientes de orina.

A los “chicos Hg”: Karla Lima, Sergio Sequera, Rafael Cardozo, Ghioconda Díaz, Cris Tineo, Debbie la Cruz, Laura Faublack, Josué Alfaro, Reinaldo Vilorio y Andreina), por ayudar en la realización de este trabajo y con quien compartí largas horas de viaje. Gracias Muchachos!! Este Éxito también es de ustedes.

A Natalia, María Gabriela Palma, Urania, Maribel, Virginia, Claudia, Mariak´ por estar ahí en los momentos más difíciles tanto de mi tesis como de mi carrera.

A mis amigos de la escuela de Química: Ronald, Luis Miguel, Reinaldo, KareliS, Carmen, Eloy, Maryuris, Ana Javier, Alberto, Jhon, Ana Hernández, Irelui, Sacha, Jennifer y Gabriela Tormet) con quién compartí grandes momentos de mi carrera y de mi tesis.

A la gente que hizo vida en el CQA durante mi tiempo de estadía ahí (Raimundo, Yorbin, Vanessa, Kattyan, Dilia, Juan Pablo, Katy, Kharla, Carmen, Anamelia, Carmela y Neidi).

A todos mis alumnos tanto del laboratorio de principios de química y también a los del laboratorio de instrumental analítico, en especial a Diana Valdiviezo y a Génesis Zambrano.

A la señora María Gollino a quien le debemos todos los contactos en los colegios de El Callao y mostrarnos una mejor forma de vida en ese sector.

Al noble pueblo de El Callao quienes siempre estuvieron dispuestos a colaborar en cualquier cosa que necesitáramos (hospedaje, comida y hospitalidad) sin ellos este trabajo no pudo haberse realizado.

“Este trabajo está dedicado
a los que no creyeron
porque ahora si creen”

Índice de contenido

Capítulo I. Introducción.....	1
I.1 Reseña histórica del mercurio como elemento químico.....	1
I.2 Propiedades del mercurio.....	2
I.3 Usos del mercurio y sus compuestos.....	3
I.4 Efectos del mercurio sobre la salud.....	4
I.4.1 Efectos de las diferentes especies de mercurio sobre la salud.....	5
I.4.2 Efectos del tiempo de exposición del mercurio (intoxicación aguda y crónica) sobre la salud.....	5
I.4.3 Efectos del mercurio sobre la salud (Vías de penetración al organismo).....	6
I.5 Ciclo del mercurio y sus efectos en el medio ambiente.....	8
I.6 Límites de exposición.....	10
I.7 Límites biológicos de exposición del mercurio.....	10
I.8 Límites ocupacionales de exposición del mercurio.....	12
I.9 Límites ambientales de exposición del mercurio.....	13
I.10 Disponibilidad de muestras biológicas.....	14
I.11 Creatinina.....	17
I.12 Determinación analítica del mercurio.....	18
I.12.1 Fundamento de la espectroscopía de absorción atómica.....	18
I.12.2 Espectroscopia de absorción atómica con vapor frío (CV-AAS).....	19
I.12.2 Espectroscopia de fluorescencia atómica con vapor frío (CV-AFS).....	20
I.13 Determinación analítica de la creatinina.....	21
I.14 Minería.....	22
I.14.1 Forma de extracción del oro y su amalgamamiento en la pequeña minería.....	25

Capítulo II. Antecedentes.....	28
Capítulo III. Objetivos.....	42
Capítulo IV. Parte experimental.....	44
IV.1 Instrumentación.....	44
IV.2 Reactivos y materiales.....	49
IV.3 Procedimientos.....	50
IV.3.1 Zona de muestreo.....	50
IV.3.2 Selección de la población.....	51
IV.3. Encuesta epidemiológica.....	54
IV.3.4 Descripción de las muestras.....	54
IV.3.5 Recolección de las muestras.....	55
IV.3.6 Almacenamiento de las muestras.....	55
IV.3.7 Lavado del material.....	55
IV.4 Procedimientos para la determinación de la concentración de mercurio en orina.....	56
IV.4.1 Tratamiento de las muestras.....	56
IV.4.2 Procedimientos de lectura mediante CV-AAS.....	56
IV.4.3 Procedimientos de lectura mediante CV-AFS.....	57
IV.4.4 Cuantificación del mercurio en las muestras de orina y preparación de la curva de calibración.....	57
IV.5 Procedimientos para la determinación de la concentración de creatinina en orina.....	59
IV.5.1 Tratamiento de las muestras.....	59
IV.5.2 Procedimientos de lectura mediante espectroscopía de absorción molecular.....	59

IV.5.3 Cuantificación de la creatinina en las muestras de orina y preparación de la curva de calibración.....	60
IV.6 Análisis estadístico.....	61
Capítulo V. Resultados y discusión.....	62
V.1 Figuras de merito.....	62
V.1.1 Límites de detección y de cuantificación.....	62
V.1.2 Validación del método de determinación de Hg por CV-AFS y de creatinina por espectroscopia de absorción molecular.....	63
V.2 Descripción de la población muestreada.....	64
V.2.1 Aspectos generales.....	64
V.2.2 Concentración de mercurio urinario en la población estudiada.....	64
V.3 Niveles de Hg en la población estudiada.....	72
V.4 Relación de los niveles de Hg con diversos parámetros.....	75
V.5 Fuentes de exposición.....	78
Capítulo VI. Conclusiones.....	87
Capítulo VII. Recomendaciones.....	90
Capítulo VIII. Referencias.....	91
Capítulo IX. Apéndice.....	101
IX.1 Tabla de números aleatorios.....	101
IX.2 Encuesta.....	102
IX.3 Modelo de cálculo en la determinación de mercurio.....	105

Índice de Tablas

Capítulo I.

Tabla 1. Algunos compuestos inorgánicos y orgánicos del Mercurio.....	3
Tabla 2. Límites biológicos de exposición.....	11
Tabla 3. Límites de valores de concentración de Mercurio para personas expuestas y no expuestas en Venezuela.....	12
Tabla 4. Estándares de salud ocupacional y ambiental para la exposición a inhalación a vapores de mercurio.....	13
Tabla 5. Concentraciones máximas permisibles de mercurio en suelos, aguas y aire...	14
Tabla 6. Límites de detección de las diferentes técnicas analíticas usadas para la determinación del Mercurio.....	21

Capítulo II.

Tabla 7. Resultados obtenidos de Hg excretado en orina para los individuos divididos en grupos según su modo de vida.....	32
Tabla 8. Resultados obtenidos de Hg excretado en orina para los individuos divididos en grupos según su modo de vida.....	34
Tabla 9. Resultados obtenidos de los niveles de mercurio en las diferentes tipos de muestras analizadas.....	37
Tabla 10. Resultados de los niveles de excreción de Hg en el Bloque B, de El Callao reportados.....	38

Tabla 11. Valores de excreción de U-Hg en niños y niñas del municipio San Diego, Edo Carabobo, Venezuela.....	40
---	----

Capítulo III.

Tabla 12. Condiciones de operación para el espectrómetro de absorción atómica con generación de vapor, Perkin Elmer, modelo FIMS-100.....	45
Tabla 13. Condiciones instrumentales para la determinación de mercurio por espectrofotometría de fluorescencia atómica con generación de vapor.....	47
Tabla 14. Condiciones experimentales.....	47
Tabla 15. Numero de niños seleccionados y muestreados por cada colegio.....	53
Tabla 16. Volúmenes de soluciones usadas para la preparación de cada patrón.....	59
Tabla 17. Preparación de los patrones de calibración para medir la concentración de creatinina.....	60

Capítulo IV.

Tabla 18. Resultados de los límites de detección y cuantificación.....	63
Tabla 19. Resultados de la concentración de Hg y de creatinina en orina del material certificado SERONORM™ (Trace elements urine), REF 201205 y lote #0511545.....	64
Tabla 20. Valores de excreción de Hg y creatinina en las muestras de los niños de la institución José Agosto Méndez.....	66
Tabla 21. Valores de excreción de Hg y creatinina en las muestras de los niños de la institución Dr. Alfredo Machado.....	67
Tabla 22. Valores individuales de excreción de Hg y creatinina en las muestras de los niños de la institución Nicolás Antonio Farreras.....	68

Tabla 23. Valores individuales de excreción de Hg y creatinina en las muestras de los niños de la institución Barrio Obrero.....	71
Tabla 24. Número de niños muestreados, valores de mediana y rango de valores respecto a la institución a la cual pertenecen.....	72
Tabla 25. Valores generales de los niveles de mercurio en las muestras de orina de 24 horas de los niños muestreados.....	73
Tabla 26. Número de niños muestreados, valores de mediana y rango de valores respecto a su sexo.....	75
Tabla 27. Número de niños muestreados, valores de mediana y rango de valores respecto a su edad.....	77
Tabla 28. Número de niños muestreados, valores de mediana y rango de valores respecto al factor de nacimiento en El Callao.....	78
Tabla 29. Número de niños muestreados, valores de mediana y rango de valores respecto a la distancia de la casa de habitación y las posibles fuentes de emisión de Hg.....	80
Tabla 30. Número de niños muestreados, valores de mediana y rango de valores respecto a la profesión de padre.....	83
Tabla 31. Número de niños muestreados, valores de mediana y rango de valores respecto a las diferentes tipos de situaciones relacionadas con la minería artesanal...	85

Índice de Figuras

Capítulo I.

Figura 1. Modelo del ciclo del Mercurio y de la bioamagnificación.....	9
Figura 2. Diagrama óptico del equipo de CV-AFS.....	21
Figura 3. Esquema general de un espectrofotómetro de doble haz.....	22
Figura 4. Producción de Hg en el mundo y en España, y un índice corregido de los precios de Hg y oro en el mercado mundial sobre 3 décadas.....	24
Figura 5. Molino.....	26
Figura 6. Molino en acción y placa amalgamada.....	26
Figura 7. Cola de molino.....	26

Capítulo IV.

Figura 9. Espectrómetro de absorción atómica con generación de vapor, Perkin Elmer, modelo FIMS-100.....	44
Figura 10. Diagrama esquemático del sistema de flujo de inyección. Cada parte del equipo significan: A: Solución acida, B: Agente reductor, C: Reactor, D: Desechos, GL: Separador gas-liquido, F: Celda de atomización, H: Espectrómetro de absorción atómica, V: Válvula de inyección, P: Bomba peristáltica, M: Muestra.....	45
Figura 11. Espectrofotómetro de fluorescencia atómica con generación de vapor (CV-AFS), Analytikjena AG, modelo Mercur.....	46
Figura 12. Diagrama funcional del equipo de CV-AFS. Cada parte del equipo significan: AS: Automuesteador, P1 y P4: Bombas peristálticas, R: Reactor, S: separador gas-	

liquido, V2 y V4: Válvulas, BS: Censor de burbuja, G1 y G2: 1er y 2do colector de Oro, ST: Secador de membrana, K: Celda de atomización.....	46
Figura 13. Espectrofotómetro de UV-visible de doble haz, marca SHIMADZU modelo UV-150-02 (UV-VIS).....	48
Figura 14. Ultrasonido, marca Cole-Palmer, modelo 8891.....	48
Figura 15. Densímetro ATAGO, modelo URC-NE.....	49
Figura 16. Ubicación geográfica de El Callao, Estado Bolívar, Venezuela.....	50
Figura 17. Vista área de los colegios en los cuales estudiaban los niños muestreados.....	51
Figura 18. Representación gráfica de la distribución de niños muestreados respecto a la institución a la cual pertenecen.....	53
Figura 19. Representación típica de una curva de calibración usada para la cuantificación del Hg.....	58
Figura 20. Representación típica de una curva de calibración usada para la cuantificación de la creatinina.....	61

Capítulo V.

Figura 21. Valores individuales de excreción de Hg por gramo de creatinina en orina de 24 horas en las muestras de los niños del José Agosto Méndez. Dispuestos en forma creciente.....	66
Figura 22. Valores individuales de excreción de Hg por g de creatinina en orina de 24 horas en las muestras de los niños de la institución Dr. Alfredo Machado. Dispuestos en forma creciente.....	68
Figura 23. Valores individuales de excreción de Hg por g de creatinina en orina de 24 horas en las muestras de los niños del colegio Dr. Nicolás Antonio Farreras. Dispuestos en forma creciente.....	70

Figura 24. Valores individuales de excreción de Hg por g de creatinina en orina de 24 horas en las muestras de los niños de la institución Barrio Obrero. Dispuestos en forma creciente.....	71
Figura 25. Representación gráfica de los valores de mercurio en las muestras de orina de 24 horas de los niños muestreados distribuidos según la institución a los que pertenecen.....	72
Figura 26. Representación gráfica de los valores de concentración de mercurio en las muestras de orina de 24 horas de los niños muestreados.....	74
Figura 27. Representación gráfica de los valores de mercurio en las muestras de orina de 24 horas de los niños muestreados, distribuidos según su sexo.....	76
Figura 28. Representación gráfica de los valores de mercurio en las muestras de orina de 24 horas de los niños muestreados distribuidos según su edad.....	77
Figura 29. Representación gráfica de los valores de mercurio en las muestras de orina de 24 horas de los niños muestreados distribuidos según su factor de nacimiento....	79
Figura 30. Representación gráfica de las medianas de los valores de mercurio en las muestras de orina de 24 horas de los niños muestreados distribuidos según la distancia (en cuerdas) entre la vivienda y las fundiciones de amalgamas.....	81
Figura 31. Representación gráfica de las medianas de los valores de mercurio en las muestras de orina de 24 horas de los niños muestreados distribuidos según la distancia (en cuerdas) entre la vivienda y los talleres de las joyerías.....	81
Figura 32. Representación gráfica de las medianas de los valores de mercurio en las muestras de orina de 24 horas de los niños muestreados distribuidos según la distancia (en cuerdas) entre la vivienda y los molinos.....	82
Figura 33. Representación gráfica de las medianas de los valores de mercurio en las muestras de orina de 24 horas de los niños muestreados distribuidos según la distancia (en cuerdas) entre la vivienda y las minas.....	82
Figura 34. Representación gráfica de las medianas de los valores de mercurio en las muestras de orina de 24 horas de los niños muestreados distribuidos en función de las profesiones de sus padres.....	84

Figura 35. Representación gráfica de las medianas de los valores de mercurio en las muestras de orina de 24 horas de los niños muestreados distribuidos en función a las diferentes actividades tanto de los padres como de los niños. Donde las siglas significan: “Tra p c Si”: El padre si quema amalgamas de Hg en sus hogares. “Tra p c No”: El padre no quema amalgamas de Hg en sus hogares. “Tra p at Si”: El niño si acompaña al padre a los molinos. “Tra p at No”: El niño no acompaña al padre a los molinos.....85

Capitulo IX.

Tabla de números aleatorios.....101

I Introducción

I.1 Reseña histórica del mercurio como elemento químico

El mercurio es un metal pesado el cual posee la particularidad de ser el único metal que a temperatura ambiente es un líquido, de color plateado e inodoro. Desde el momento de su descubrimiento se ha asociado con cualidades curativas. El nombre de este metal proviene de los griegos que le colocaron *hydrargyros* el cual significa "agua plateada", de esta palabra es de donde se deriva el símbolo atómico de este elemento (Hg), los romanos en cambio llamaron al mercurio "Argentum Vivum", que significa "Quick Silver" o "plata líquida" debido al estado en el que se encuentra en la naturaleza, ellos lo aplicaban para hacer cosméticos.

En la edad media comienzan a identificarse los efectos adversos del uso de mercurio. Muchos de los trabajadores de las minas de mercurio en España se enfermaron gravemente o murieron de intoxicación. Algunas de las personas tratadas con medicamentos a base de mercurio, sufrían de salivación anormal, descontinuándose este tipo de tratamiento por esta razón. En la misma época, Paracelsus fue el primer hombre que intentó explicar los efectos adversos del mercurio en el ser humano. Él pensó que lo peligroso del mercurio era aplicarlo externamente y que ingerirlo no haría daño pues el cuerpo lo eliminaría en forma de sudor, excreción u orina. Otros analistas recomendaban el uso del elemento en forma de ungüentos, ingerido y hasta inhalado. A corto o largo plazo, el enfermo empeoraba y se hacía susceptible a otras enfermedades que podían causarle la muerte.

El químico francés Antoine Laurent de Lavoisier lo identificó por primera vez como elemento durante sus investigaciones sobre la composición del aire, más tarde se convirtió en uno de los elementos más utilizados que facilitaron la

experimentación y la construcción de diversos aparatos de medición. Para el siglo XVI, se fueron conociendo otros efectos adversos del mercurio, y comenzó a disminuir su uso. Para el año 1557, el francés Jean Fernel fue el primero en describir los síntomas y signos del envenenamiento con mercurio, siendo el mercurio la primera sustancia en ser objeto de legislación para controlar las enfermedades que causaba. En los Estados Unidos sucedió una gran contaminación debido a un proceso llamado “carroting” el cual era usado en la fabricación de sombreros a nivel industrial. El proceso se debía a que las pieles de animales se enjuagaban con una solución de $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ siendo esta solución tóxica y desprendiendo vapores igualmente tóxicos, como resultado los trabajadores sufrieron severos trastornos de salud y psicológicos.

I.2 Propiedades del mercurio

El mercurio es conocido como un metal pesado, debido a su elevada densidad que es 13,6 veces superior a la del agua, presenta una tensión superficial mayor a ésta (484 dinas/cm) lo cual hace que una gota de este elemento sea incapaz de mojar cualquier superficie. Debido a su alta presión de vapor (1,22 mmHg a 20° C) se evapora a temperatura ambiente. Esto hace que su toxicidad aumente ya que a 20° C su concentración en el aire puede alcanzar hasta 0,014 g/m³, y a 100° C hasta 2,4 g/m³, estos vapores resultan ser muy tóxicos, [corrosivos](#) y más pesados que el [aire](#).

El mercurio es insoluble en [agua](#) (56 µg/L a 25° C), pero [soluble](#) en [ácido nítrico](#) (2.7 mg/L), es un mal conductor del [calor](#) comparado con otros [metales](#), aunque no es mal conductor de la [electricidad](#), el mercurio elemental se asocia con algunos metales para formar amalgamas. A continuación nombramos las diferentes especies de este elemento, en la tabla 1, se presentan algunos compuestos del Hg más conocidos.

Tabla 1. Algunos compuestos inorgánicos y orgánicos del Mercurio

Tipos	Formulas moleculares
Sulfuros	HgS
Óxidos	HgO
Compuestos con Halógenos	Hg ₂ Cl ₂ , HgCl ₂ , HgF ₂ , HgBr ₂ , entre otros
Cianatos y Tiocianatos	Hg(SCN) ₂ , Hg(CN) ₂
Nitratos y Sulfatos	Hg ₂ (NO ₃) ₂ , Hg ₂ SO ₄ , HgSO ₄ , entre otros
Orgánicos	Metilmercurio (me-Hg), Etilmercurio (et-Hg), Fenilmercurio (ph-Hg)

Usualmente las especies de mercurio inorgánico (I-Hg) son sales en sus formas divalentes y monovalentes de este elemento (HgF₂, HgBr₂, etc.), mientras que las especies de mercurio orgánico (O-Hg) son compuestos organometálicos (alcaloides y ariloides).

I.3 Usos del mercurio y sus compuestos

A modo general se usa para fabricar [instrumentos de medición](#) principalmente [termómetros](#), [tensiómetros](#), [enchufes](#), rectificadores eléctricos, [interruptores](#). Otro uso del mercurio es la denominada [lámpara de vapor de mercurio](#) como fuente de luz ultravioleta en equipos de espectrometría de absorción atómica. El vapor de mercurio se utiliza también en los motores de turbinas, reemplazando al vapor de agua de las calderas.

El mercurio metálico principalmente es empleado para la extracción del oro (Au) y la plata (Ag) en las minas naturales por formación de amalgamas, para obtención de

estos elementos nobles. También es usado en la odontología a modo de prevención de las caries y restauraciones dentales.

El mercurio bajo su forma inorgánica (I-Hg) puede ser empleado en la industria del sombrero donde el nitrato de mercurio es usado para la fabricación de terciopelo a partir del pelo de conejo. También algunos compuestos de I-Hg han sido usados por muchos años en numerosos productos, incluyendo varios medicamentos, jabones germicidas y cremas para la piel, muchos de ellos contienen del 6 a 10% de HgCl_2 . Además el cloruro de mercurio se usa como catalizador químico y en la fabricación de electrodos de referencia tipo calomel.

Mientras el mercurio orgánico que se encuentra bajo las formas que ya fueron expuestas en la tabla 1, es utilizado especialmente en la agricultura como fungicidas con el propósito de evitar la proliferación de limo en la pulpa de papel, como plaguicidas en cultivos de árboles frutales, y también en el tratamiento de granos y simientes (semillas para sembrar), en otros casos se usa como antisépticos o diuréticos. Por otro lado el etilmercurio (et-Hg) forma parte de la estructura del timerosal la cual es usada como antiséptico y antifúngico, sirve como preservativo en las vacunas, sueros, productos nasales y oftálmicos.

I.4 Efectos del mercurio sobre la salud

En general los efectos que pueden provocar el contacto con este metal sobre los seres humanos dependen de varias variables, entre ellas podemos nombrar la especie mercurial (Hg^0 , I-Hg, O-Hg), el tiempo de exposición (intoxicación crónica y aguda), la

vía de ingreso y la sensibilidad que presenta cada organismo la cual es una característica propia de cada individuo.

I.4.1 Efectos de las diferentes especies de mercurio sobre la salud

El mercurio metálico al presentar alta volatilidad a temperatura ambiente hace que su grado de exposición aumenten respecto a otros metales que no son volátiles pero igual de tóxicos (Pb, Cd, As). Algunos efectos del Hg^0 suelen ser daños a los riñones, insomnio, pérdida de la memoria, eretismo, tremor entre otros¹.

Mientras el I-Hg en su forma Hg^{2+} es un neurotóxico, podría producir la alteración de estructuras proteicas, enzimas y sustancias transmisoras sinápticas. También se encuentra reportado que el I-Hg bloquea la voltaje-actividad de los canales de Ca^{2+} en las terminales nerviosas. Se ha encontrado que el I-Hg tiene preferencia a acumularse en tejidos suaves, predominantemente el riñón, donde se une sobretodo a proteínas con grupos tioles.

El O-Hg es la especie mas toxica siendo el me-Hg y el et-Hg las de mayor toxicidad de todas, ya que son liposolubles y fácilmente absorbibles por los glóbulos rojos, siendo transportadas por todo el cuerpo hasta llegar a la zona del cerebro en donde se aloja y su tiempo de excreción suele ser muy largo (meses y hasta años), una vez aquí afecta el sistema nervioso central. Entre los síntomas que se producen por contaminación con mercurio orgánico pueden ser ceguera, pérdida del equilibrio y/o memoria, entre otros.

I.4.2 Efectos del tiempo de exposición del mercurio (intoxicación aguda y crónica) sobre la salud

Un caso particular de exposición baja pero continua del mercurio elemental es la producida por las amalgamas dentales. Estas reparaciones bucales presentan un 50% de mercurio metálico por peso de la amalgama, los vapores del mercurio que se encuentra en la superficie ingresan al organismo por inhalación, también se ha reportado intoxicaciones cortas cuando los niños están en contacto con termómetros, barómetros o algún otro dispositivo que tenga Hg. En casos de pocas ingestas de alimentos contaminados con me-Hg es posible que algunos efectos del mismo no sean perceptibles o evidentes, sí durante el embarazo la madre es expuesta, por ejemplo, a través del consumo de peces contaminados, es posible que el bebé parezca normal al nacer, pero más adelante durante su vida, puede presentar retraso en su desarrollo físico e intelectual. Por ejemplo, pequeñas reducciones en la capacidad para aprender de los infantes o de retener información, sólo pueden detectarse empleando exámenes neurológicos muy especializados.

Cuando la exposición a metilmercurio es más alta, los efectos pueden ser más pronunciados, pudiendo aparecer retardo mental y pérdida en la capacidad de coordinación de movimientos. Otros efectos complejos observados en niños cuyas madres son expuestas a niveles mercuriales tóxicos durante el embarazo incluyen ceguera, movimientos musculares involuntarios, convulsiones, debilidad muscular e incapacidad para hablar. Para exposiciones aún mas largas, como las que sufren por ejemplo los trabajadores de la industria minera o plantas de cloro-álcali que dedican su vida a esta labor se presenta una enfermedad conocida como **eretismo mercurial** que se caracteriza por cambios severos en el comportamiento, pérdidas de memoria, insomnio, somnolencia y hasta casos graves de delirios y alucinaciones.

I.4.3 Efectos del mercurio sobre la salud (Vías de penetración al organismo).

El mercurio puede ingresar al organismo humano a través de varias vías como a continuación se especifican.

Contacto con los ojos y la piel: se ha observado irritación en los ojos, pero no se ha encontrado que el mercurio elemental pueda ser acumulado y mucho menos ingresa al torrente sanguíneo, por lo que los ojos no funcionan como puerta de entrada hacia el cuerpo humano, mientras que en la piel el mercurio metálico (Hg^0) es absorbido a través de ella, pero en mínimas cantidades causando irritación en la misma. En estudios con voluntarios se observó que la velocidad de ingreso de los vapores de Hg a través de la piel fue 2,2% inferior de aquella absorbida por los pulmones, por lo que los riesgos de absorción por la piel son menores, pero la forma inorgánica (I-Hg) es un poco mas fácilmente absorbible originando una intoxicación crónica que en algunos casos resulta ser tan severa que puede conducir a la muerte².

Ingestión: el consumo directo de algunas sales de mercurio (I-Hg) inicialmente puede provocar síntomas como [vómitos](#), [diarrea](#), pérdida del apetito y debilidad muscular, pero si la dosis consumida es muy alta puede provocar la muerte por corrosión del tracto digestivo². Por otro lado, la ingestión prolongada de alimentos contaminados con mercurio (como peces), provoca la enfermedad conocida como [de Minamata](#), la cual es un síndrome neurológico grave y permanente, entre los síntomas se incluyen [ataxia](#), [alteración sensorial](#) en manos y pies, deterioro de los sentidos de la vista y el oído, debilidad y en casos extremos, parálisis y muerte.

Inhalación: Esta es la principal vía de entrada del Hg^0 al organismo, al ingresar por las vías respiratorias es rápidamente absorbido por los alvéolos pulmonares y de allí

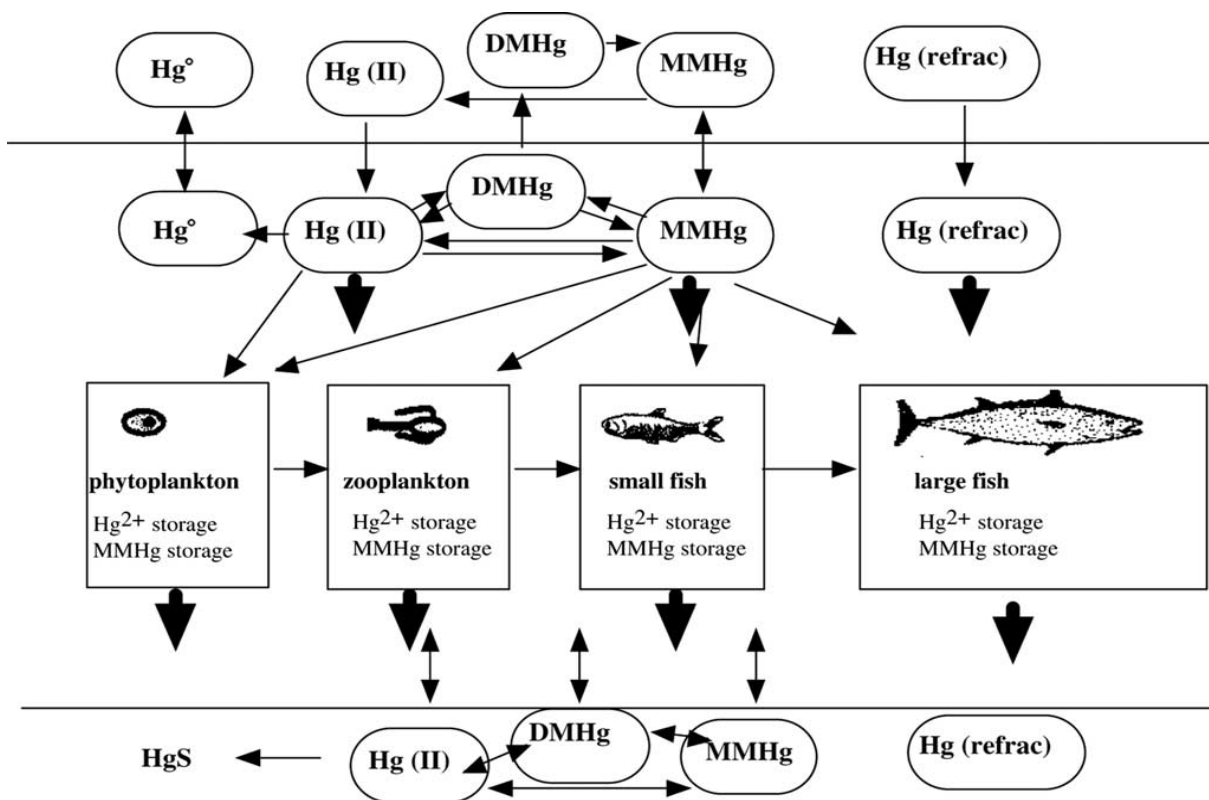
se distribuye a la sangre. Por la absorción accidental el individuo puede sufrir bronquitis junto con tos, mientras que por la inhalación de grandes y continuos vapores de mercurio son: [escozor](#) de [garganta](#), dolor de [cabeza](#), náuseas, pérdida del apetito y debilidad [muscular](#), en ocasiones existen daños neurológicos, con cambios de humor y con temblores. Gran parte de este Hg absorbido llega al hígado y riñones donde en este último se encarga de desecharlo por la orina.

1.5 Ciclo del mercurio y sus efectos en el medio ambiente.

En general el Hg ingresa al medio ambiente de dos maneras, las fuentes naturales y las fuentes generadas por las actividades del hombre o antrópicas. Las primeras se producen como resultado de la ruptura de minerales, rocas y suelos a través de la exposición al viento y agua, o por las actividades volcánicas. Independientemente de cualquiera de estas, los niveles han permanecido invariables a través de los años desde tiempos inmemoriales. Mientras que la mayor parte del mercurio que existe en el ambiente proviene de las actividades industriales y actualmente se considera que mas del 50% del mercurio que llega a la atmósfera, ríos y lagos proviene de estas fuentes como lo son la quema de productos fósiles, minería, fundiciones en la industria del álcali y en la combustión de residuos sólidos.

El mercurio en concentraciones que normalmente se encuentra en la naturaleza no es tóxico para plantas. Sin embargo, concentraciones altas inhiben el desarrollo celular y afectan la permeabilidad, la cual es la capacidad que presenta un material para que una sustancia lo atravesase sin alterar su estructura interna. Algunas plantas (papas, zanahorias, plantas acuáticas y hongos) pueden absorber mercurio.

En los cuerpos de aguas el mercurio inorgánico es transformado a mercurio orgánico por los microorganismos o por la acción de algunos agentes químicos bajo condiciones de pH menor a 7 y suficiente carga orgánica, de estos, principalmente el metilmercurio es de mucho mayor toxicidad. Siendo los ambientes acuáticos donde se presentan con mayor intensidad la **bioacumulación**, ya que las aguas y el plancton contaminado con metilmercurio sirve de alimento para pequeños peces y mariscos. El mercurio generalmente no causa la muerte de estos peces, porque su resistencia es superior a la de los seres humanos, pero cuando peces de mayor tamaño (los depredadores) se alimentan de los de menor tamaño, lo concentran aún más y pueden llegar hasta el punto de ser tóxicos, a su vez estos peces pueden ser consumidos por animales superiores como aves o mamíferos, incluso el hombre. Este proceso es conocido como **biomagnificación** que es la acumulación progresiva de ciertos [metales pesados](#) (y otras sustancias persistentes) de uno a otro nivel trófico sucesivo. El proceso de biomagnificación se ilustra en la figura 1



Fi

gura 1. Modelo del ciclo del Mercurio y de la bioamplificación³.

Las cadenas alimentarias acuáticas suelen tener más niveles de biomagnificación que las terrestres, en las que los depredadores de especies silvestres rara vez se alimentan unos de otros y, por lo tanto, la [biomagnificación](#) acuática generalmente alcanza valores mayores. Además de esto, se han encontrado valores recientes de metilmercurio en peces como tunas, tiburones y pez espada, llegando a valores de hasta 1200 ng Hg/g.³ La bioacumulación y biomagnificación del mercurio, son procesos muy complejos en el que participan ciclos bioquímicos e interacciones ecológicas complicadas. Por consiguiente, aunque pueda observarse la acumulación/biomagnificación, no es fácil predecir el grado de biomagnificación del mercurio en peces de diferentes sitios.

1.6 Límites de exposición

Para evitar efectos adversos a la salud de los seres humanos producida por exposición ocupacional o accidental, se han creado una serie de valores indicadores los cuales nos dicen el grado de contaminación que puede tener el medio ambiente que rodea a los habitantes o también pueden indicar el grado de exposición de dichos sujetos. La primera aplicación de algo parecido a los límites de exposición ocurrió en el siglo XVIII, cuando los habitantes de una villa de Italia iniciaron una acción judicial contra una industria de cloruro de mercurio⁴. Para el caso mas específico de los contaminantes químicos, existen varias organizaciones encargadas del estudio, recopilación y gestión de políticas de prevención debido a resultados de valores de exposición ocupacional o ambiental. Entre las tantas organizaciones podemos mencionar algunas:

- Organización Mundial de la Salud (OMS ó WHO por sus siglas en ingles).
- Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA)
- Instituto Nacional para la Seguridad e Higiene Ocupacional (Siglas en ingles NIOSH).
- Administración de Salud y Seguridad Industrial (Sigla en ingles, OSHA).
- Conferencia Americana de Higienistas Industriales (ACGIH), entre otras.

I.7 Límites biológicos de exposición del mercurio

Estos lineamientos pueden ser establecidos a partir de pruebas directas, que implican las medidas orientadas hacia este analito en dichas muestras, o por pruebas indirectas que tiene que ver con la determinación de los efectos que produce el metal en el organismo humano. Con relación al mercurio existen muchos antecedentes que sirvieron para la determinación de los valores mínimos, éstos dependen del país y de la

organización no gubernamental, también depende de si se trata de poblaciones expuestas y no expuesta o a las diferentes formas del mercurio (Hg⁰, I-Hg. O-Hg).

Muchos autores han utilizado estos valores como referencia para indicar si las personas exceden o no los límites permisibles, y determinar si las poblaciones estudiadas están expuestas. Cabe destacar que no se puede decir si un individuo se encuentra contaminado solo por exceder estos valores ya que, ese estado simplemente se estudia si existen síntomas propios de excesos del metal en el cuerpo, lo cual depende de la fisiología de cada organismo. En la tabla 2 se muestran algunos límites biológicos de exposición por organizaciones.

Tabla 2. Límites biológicos de exposición

Organización	Año	Especie	Matriz	Concentración	Personal
Programa internacional de seguridad química ⁵	2003	T-Hg	Orina	< 5 µg/g creatinina	No Expuesto
OMS ⁶	1991	T-Hg	Sangre orina	5 µg/100 mL 50 µg/g creat.	Expuesto Expuesto
ACGIH ⁷	2002	T-Hg	Orina	35 µg/g creatinina	Expuesto
Programa de retiro preventivo (Canadá) ⁷	2000	T-Hg	Orina	3,5 µg/g creatinina	Expuesto
EPA ⁸	2006	T-Hg	cabello	1 µg/g	Expuesto
UNIDO ¹	2003	T-Hg	Sangre Orina	5-10 µg/L 5 µg/g creatinina	No Expuesto No Expuesto
US NRC ¹	2000	T-Hg	Sangre	2 µg/L	No Expuesto

Donde: T-Hg indica mercurio total (orgánico e inorgánico).

En nuestro país se establecieron los valores de riesgo a exposición biológica tanto para personal expuesto, como no expuesto. En la tabla 3 son expuestos:

Tabla 3. Límites de valores de concentración de mercurio para personas expuestas y no expuestas en Venezuela⁹

Especie	Personal	Conc. Hg en Sangre	Conc. Hg en Orina	Conc. Hg en cabello
Mercurio Inorgánico	Expuesto	15 µg/L	35 µg/g creatinina 50 µg/L	*
	No expuesto	< 1 µg/L	< 5 µg/g creatinina	*
Mercurio Orgánico	Expuesto	100 µg/L	*	*
	No expuesto	< 10 µg/L	*	
Mercurio Total	Expuesto			6 µg/g cabello

(*) La concentración de la especie de Hg en estos tejidos nos es representativa.

I.8 Límites ocupacionales de exposición del mercurio

Los límites ocupacionales no solamente toman en cuenta los valores del ambiente a los cuales están expuestos los trabajadores sino también consideran los factores de sus equipos de protección individual y sus medidas de higiene industrial. La importancia de estos lineamientos aumenta si en algunos lugares de trabajo no se cumplen las medidas de seguridad adecuadas, por lo tanto es importante alcanzar las

menores concentraciones posibles así de resguardar la calidad de vida de los trabajadores⁴. En la tabla 4 se muestran algunos límites ocupacionales de exposición por organizaciones.

Tabla 4. Estándares de salud ocupacional y ambiental para la exposición a inhalación a vapores de mercurio^{4 y 10}

Organización	Tiempo de Exposición	Concentración de Hg⁰ (µg Hg/m³)	Especie de Hg
OSHA y ACGIH ¹¹	Valor promedio en el tiempo (TWA)	100	I-Hg
NIOSH y WHO ¹¹	Valor promedio en el tiempo (TWA)	50	I-Hg
ACGIH ¹¹	Valor promedio en el tiempo (TWA)	25	Hg ⁰
ATSDR ¹²	Nivel de riesgo mínimo (MRL)	0,2	Hg ⁰
EPA	Exposición Intermitente.	0,3	Hg ⁰

1.9 Límites ambientales de exposición del mercurio

Los efectos de muchas sustancias contaminantes sobre el medio ambiente pueden llegar a ser enormes cuando estas son de origen antrópico y en algunos casos cuando estas actividades son desmedidas terminan afectando a los seres vivos (plantas, animales y seres humanos). Los límites ambientales dependen del destino de las muestras estudiadas, por ejemplo para muestras de aguas los valores varían dependiendo de si son aguas de riego, de consumo o de ríos. Por otro lado, los valores permisibles no deben confundirse con estos límites, ya que ellos vinculan los valores a

los cuales pueden estar expuestos un personal durante un periodo de trabajo. Como todas las medidas dependen del país y de la organización encargada de investigar los riesgos sobre el ambiente. Los valores ambientales pueden sufrir variaciones importantes debido a la poca data de los efectos de sustancias antrópicas sobre algunos ecosistemas y por cambios de las condiciones de esos sistemas⁴. Algunos valores para el Hg se muestran en la tabla 5, para muestras de suelos, aire y aguas.

Tabla 5. Concentraciones máximas permisibles de mercurio en suelos, aguas y aire^{13 y}

14

País u organización	Concentración de Hg	Tipo de muestra
Canadá	0,8 µg/Kg	Suelo agrícola
	2 µg/Kg	Suelo residencial
	10 µg/Kg	Suelo Industrial
Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA)	(70 – 300) µg/Kg	-
Reino Unido	(1 – 20) µg/Kg	Suelos en espacios abiertos (jardines, parques, etc.)
WHO	15 µg/m ³	Aire urbano
EPA (1997) ¹⁵	3,5 µg/m ³	Aire Urbano (RfC)
WHO ⁴	1 µg/L	Agua potable
WHO ⁴	0,2 µg/l	Agua de río
WHO ⁴	0,3 µg/L	Agua de Mar

I.10 Disponibilidad de muestras biológicas

El grado de exposición de una población puede ser estimada mediante la medida de los niveles de contaminación con el uso de marcadores biológicos o biomarcadores, los cuales son indicadores sensibles de la exposición individual al mercurio dando una medida de la dosis interna, la cual puede ser usada para evaluar los efectos adversos a

la salud y mejorar los diagnósticos clínicos¹. Los biomarcadores también se basan en la determinación de las cantidades del elemento en diversidades de muestras, que pueden ser: clínicas (orina, sangre, heces, cabello, entre otras), o ambientales (suelos, sedimentos, aire, entre otras), los cuales se basan en la correlación dosis/efecto y la correlación dosis/respuesta.

Es importante considerar varios factores a la hora de escoger en particular un biomarcador de exposición: (1) lo bien que el biomarcador se correlaciona con la exposición externa de varias formas de mercurio; (2) lo bien que el biomarcador se correlaciona con la concentración de mercurio; (3) que la variabilidad del biomarcador en el tiempo indique de forma efectiva la variación de la exposición en el tiempo. (4) el biomarcador escogido debe ser apropiado con las características culturales de la población¹. Una amplia variedad de biomarcadores de exposición para el mercurio han sido estudiados en diferentes fluidos y tejidos humanos tales como sangre, orina, uñas, cabellos, heces, sudor entre otros.

Muestras de sangre: En la sangre se puede determinar la presencia de exposición reciente del individuo, ya que el Hg^0 en esta matriz tiene un tiempo de vida medio de unas 72 horas en donde es oxidado a su forma iónica (I-Hg). Usualmente el análisis de Hg en sangre esta reservado para propósitos de diagnostico y para problemas de exposición que no pueden ser resueltos por monitoreo del aire expirado o por la orina, en ocasiones los valores obtenidos también sirven como una medida de correlación con datos aportados por estudios con otros biomarcadores. También es posible establecer una relación directa entre la concentración de T-Hg y el consumo de pescado contaminado con me-Hg, ya que esta especie es liposoluble. Usualmente la concentración de metilmercurio alcanza su máximo de concentración en la sangre en las primeras 4 a 14 horas, donde empieza a decrecer por su distribución sobre otros tejidos en las subsiguientes 20 a 30 horas¹.

El estudio de Hg en sangre presenta varias desventajas entre las cuales podemos nombrar: (1) la recolección, almacenaje y transporte en algunas ocasiones es complicado. (2) Para la toma de muestra es necesario el uso de equipo estéril y requiere de personal especializado en el área. (3) En muchos casos es necesario un consentimiento de los sujetos, por lo que se debe considerar de factores sociales. (4) Las cantidades de muestra es limitada y dependen de la edad y condición física del participante. (5) las muestras deben almacenarse en frío, y si es muy largo el período entre recolección y análisis, las muestras deben congelarse.

Muestras de orina: es el análisis por excelencia para la determinación de una exposición aguda o crónica tanto de mercurio elemental o inorgánico, en el caso del primer tipo de exposición solo se puede aplicar luego de unos días de exposición (7-10 días)¹⁶, porque el I-Hg es almacenado en los riñones. Estudios han demostrado que también se excreta el O-Hg pero en muy pequeñas cantidades respecto al I-Hg, lo cual lo hace un mal biomarcador de esta especie.

La orina presenta varias ventajas respecto a las otras matrices entre las cuales podemos mencionar: su abundancia, es fácil de obtener debido a que no se necesita de personal capacitado para la recolección, el individuo no requiere de un previo ayuno, además es homogénea y como es un líquido evita el difícil proceso de llevar el analito a solución. Sin embargo, tiene como desventaja que su composición depende del funcionamiento de los riñones y la influencia de enfermedades urinarias, para independizarse de este factor se determina la creatinina y el resultado es dado como concentración de Hg por gramo de creatinina (Hg/g creat). En ocasiones este factor no es suficiente para eliminar la dependencia con el ciclo diario de excreción, por ello es algunos procedimientos de toma de muestra se utiliza la orina de 24 horas (U-24h) y los resultados se dan en $\mu\text{g Hg/día}$ aunque algunos trabajos publican que es mejor la

primera micción de la mañana por tener mas cantidad de metales desechados^{11 y 17}, el empleo de cualquiera de los dos procedimientos depende mas de las condiciones del muestreo, pero es evidente que un muestreo de U-24h es mucho mas complicado que el de orina puntual.

También se reporta que la orina por contener una gran cantidad de bacterias y microorganismos es posible la reducción del I-Hg a vapor de mercurio con lo cual ocurre una perdida considerable del analito. Para eliminar esto las muestras son enfriadas o congeladas hasta el momento de su análisis, sino se sugiere el uso de agentes estabilizantes como HNO_3 o l-cisteína¹, pero estos agentes pueden interferir si se desea hacer un análisis de creatinina, por lo que se debe separar una alícuota de la muestra para realizar la determinación de este componente.

Muestras de cabello: Esta matriz ha sido ampliamente establecida para determinar el grado de exposición a me-Hg en un individuo, el estudio se fundamenta en que el cabello emergente acumula una cierta cantidad de metales pesados, los cuales están fuertemente unidos a los capilares por grupos sulfidril de las proteínas. En comparación a las muestras de sangre y orina, las muestras de cabello presentan la ventaja de que la cantidad de metales que se acumulen en ellos es muy alta debido al rápido crecimiento de los mismos (1 cm/mes aproximadamente), además de esto a través del crecimiento del cabello es posible trazar los cambios dinámicos que pueden ocurrir en la penetración de estos metales producto de una exposición a larga escala (de meses o semanas). Sin embargo, entre las desventajas podemos nombrar que los niveles de mercurio en dicha matriz depende de la etnia, edad¹, pero la principal desventaja es que presentan estas muestras son los individuos a los que se toman, ya que el estudio no se debería hacer a personal expuesto ocupacionalmente al Hg^0 , como lo son los mineros de cinabrio, de oro o que trabajan en fundiciones o molinos, debido al ambiente a la que ellos se encuentran expuestos, ya que estas actividades generan

una contaminación exógena la cual es diferente a la contaminación que excreta el organismo (contaminación endógena).

I.11 Creatinina

La cantidad de algunas sustancias excretadas por la orina depende de varios factores importantes: como las enfermedades, lesiones, stress emocional y ejercicios rigurosos, la creatinina es una de esas sustancias; esta es un compuesto orgánico que es derivado de la creatina el cual es un nutriente útil para el funcionamiento de los músculos. La creatinina se sintetiza a nivel del hígado, de donde pasa a la sangre y de allí a diversos tipos de tejidos como lo son los músculos, a nivel de estos el fosfato de creatina pierde el fosfato que es usado para la formación del ADP y por deshidratación se origina la creatinina, la cual se elimina por la orina y no se reabsorbe, no así su precursor que se cree en casi su totalidad es reabsorbido del filtrado glomerular.

La creatinina presenta unas ciertas características, entre ellas podremos nombrar su producción diaria la cual es directamente proporcional al contenido de creatinina del cuerpo (cerca del 2%), que es la principal causa por la que se puede usar como parámetro de normalización. En ocasiones cuando no es posible la toma de muestra de orina de 24 horas la determinación de la creatinina ayuda para solventar en parte este problema.

Por otro lado los valores limites o el rango “de corte” según la sociedad de médicos norteamericana para creatinina en orina de 24 horas de 500 a 2000 mg creat/día, los resultados anormales de la creatinina en orina son inespecíficos, pero pueden deberse a cualquiera de las siguientes afecciones: glomerulonefritis, dieta rica en carne, insuficiencia renal, distrofia muscular (etapa tardía), miastenia grave,

azotemia prerrenal, pielonefritis, flujo sanguíneo renal reducido (como en *shock* o insuficiencia cardíaca congestiva), rabdomiólisis y [obstrucción de las vías urinarias](#).

I.12 Determinación analítica del mercurio

I.12.1 Fundamento de la espectroscopía de absorción atómica

La absorción atómica es un proceso en el cual la energía electromagnética se transfiere a los átomos, la absorción provoca que estas partículas pasen de un estado fundamental a uno o más estados excitados de energía superior. De acuerdo con la teoría cuántica, los átomos, las moléculas o los iones tienen números cuantizados de niveles de energía discretos, de modo que para que se produzca la absorción de la radiación, la energía de los fotones excitadores debe coincidir exactamente con la diferencia de energía entre el estado fundamental y uno de los estados excitados de la especie absorbente. Como estas diferencias de energía son propias de cada especie, es posible realizar un estudio de absorción, la medida de la absorción de una sustancia se le conoce como **absorbancia**, lo cual es una medida de la disminución de la potencia radiante y esta se puede relacionar con la concentración mediante la ley de Beer-Lambert, que indica que:

$$\text{Abs} = -\log(P/P_0) \quad \text{entonces} \quad \text{Abs} = \epsilon bc$$

Donde:

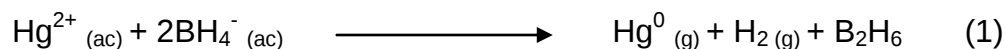
ϵ : es el coeficiente de extinción molar.

b: es la longitud del paso óptico, es decir; la longitud de la celda en donde se encuentra la muestra.

c: es la concentración del analito.

I.12.2 Espectroscopia de absorción atómica con vapor frío (CV-AAS)

Esta es una técnica aplicada únicamente para la determinación de Hg, esta técnica posee las ventajas que es rápida, sencilla y específica, además que el aumento de la sensibilidad se debe a que el Hg es separado de la matriz y es concentrado en fase gaseosa. El mercurio en solución en medio ácido, reacciona con el borohidruro de sodio, para producir el vapor de mercurio el cual es arrastrado por un gas inerte hacia la celda de absorción. La reacción que se lleva a cabo es la siguiente:



I.12.2 Espectroscopia de fluorescencia atómica con vapor frío (CV-AFS)

La fluorescencia es un proceso de absorción en el que los átomos se excitan mediante la absorción de un haz de radiación electromagnética; la principal diferencia entre las técnicas de espectroscopía de fluorescencia atómica (AFS) y las técnicas de espectroscopía absorción atómica (AAS), es básicamente la instrumentación, en la absorción atómica la fuente y el detector se encuentran en la mismo camino óptico, mientras que en las técnicas de fluorescencia se colocan a 90° uno respecto al otro; en la figura 2 se muestra la disposición óptica en un equipo de fluorescencia atómica.

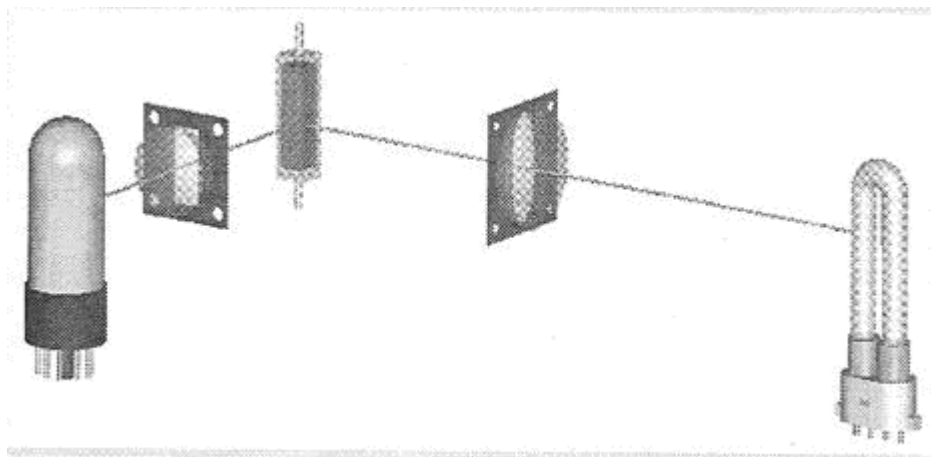
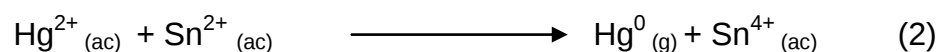


Figura 2. Diagrama óptico del equipo de CV-AFS¹⁹.

La reacción que se lleva a cabo es la siguiente:



En este caso no se usa como agente reductor el borohidruro de sodio debido a que uno de los productos obtenidos de esta reacción es el H₂ el cual produce interferencias espectrales con el H₂ generado, mientras que con esta reacción no se produce este elemento. En la tabla 6 se presentan las técnicas de análisis mas usadas en la determinación de mercurio con sus respectivos limites de detección.

Tabla 6. Limites de detección de las diferentes técnicas analíticas usadas para la determinación del Mercurio

Técnica	Limite de detección
Espectrofotometría de absorción atómica	0,1 µg Hg/L

con generación de hidruros ²⁰	
Espectrometría de absorción atómica con vapor frío, empleando un separador gas-liquido integrado (GLS) ²¹	0.02 µg Hg/L
Espectrometría de fluorescencia atómica con generación de vapor frío ²²	3.6 ng Hg/L
Plasma inductivamente acoplado a espectrometría de masas ²³	1 µg Hg/L
Espectrometría de absorción atómica acoplado a un sistema de flujo de inyección con generación de vapor (FI-VG-AAS) ²⁴	0,30 µg Hg/L

I.13 Determinación analítica de la creatinina

El método por excelencia en la parte clínica para la determinación de la creatinina no solo en orina sino también en sangre se conoce como el método de Jaffe, que es una reacción con picrato básico en un medio de hidróxido de sodio. El producto de la reacción es un compuesto coloreado (naranja) el cual se puede medir fácilmente por espectroscopia de UV-Visible.

La espectroscopía molecular se basa en la cuantificación de compuestos que presentan o no, coloración en el rango del espectro del ultravioleta y visible. En síntesis el proceso de absorción molecular se basa generalmente en la excitación de los electrones de enlace, como consecuencia los tipos de absorciones se pueden correlacionar con los tipos de enlace. Los espectros producidos por la absorción molecular a diferencia de la absorción atómica son bandas ya que el número de estados de energía de las moléculas es generalmente enorme si se compara con el de los átomos aislados. La energía de excitación asociada con las bandas esta formada por tres componentes: energía electrónica, vibracional y rotacional.

En el caso específico de la fotocolorimetría el espectrofotómetro que se utiliza es de un arreglo de doble haz el cual presenta el siguiente esquema general mostrado en la figura 3.

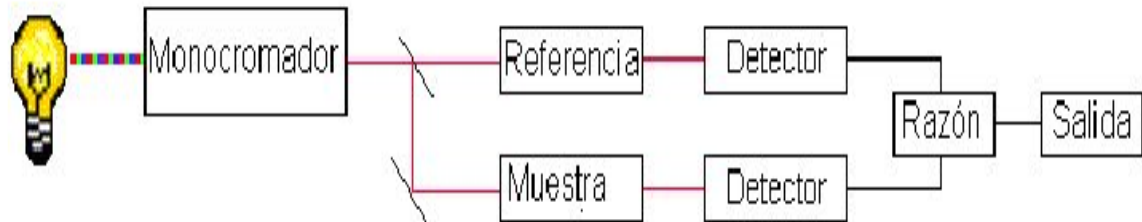


Figura 3. Esquema general de un espectrofotómetro de doble haz²⁵.

I.14 Minería

La minería se define como la actividad primaria en la que se extraen algunos minerales de la corteza terrestre, según el tipo de material extraído la minería puede ser metálica o no metálica. Se conocen minas de la era del paleolítico (hace 43 mil años aproximadamente) en donde los hombres de las cavernas extraían hematita el cual contiene hierro con el que probablemente producían [pigmentos](#) de color [ocre](#).

En la actualidad la minería puede ser aplicada de forma industrial y de forma artesanal. En la primera las compañías son las que se encargan tanto de la seguridad de sus trabajadores como de la manipulación de los desechos, mientras que la minería artesanal a pequeña escala del oro (ASM por sus siglas en inglés) se usa particularmente el amalgamamiento del mismo con mercurio, por diversas razones, entre las principales tenemos (1) el Hg es fácil de usar, (2) es económico, (3) es accesible, y (4) los mineros no son conscientes o prefieren ignorar los riesgos a la salud que puede producir el contacto. Este método fue traído por los españoles durante la época de la colonización a mediados del siglo XIX, como una aplicación para la

extracción de la plata. El mayor consumo de Hg ocurrió durante la llamada “fiebre del oro” en Norteamérica el cual resultó en un intenso período de minería, produciendo cerca 940 Ton Au/año liberando a la atmosfera mercurio en promedio la cantidad de 780 Ton Hg/año cabe destacar que desde esa época este contaminante permanece hasta el día de hoy²⁶, es por esto que la pequeña minería ha sido vista a nivel histórico como una potencial contaminante²⁷. Después de haber agotado todo el oro y la plata de esta región y con el ingreso a la historia de la revolución industrial el proceso de amalgamación tuvo un declive y se prefirió el uso de la cianuración, pero el uso de amalgamas se mantuvo en algunas partes del mundo hasta que en el año 1980 ocurrió un serio incremento del valor del oro y un decrecimiento del precio del mercurio, tal y como se muestra en la figura 4, particularmente en el Callao el precio del mercurio en el año 2004 correspondía a 20-25 US\$/Kg lo que corresponde a un 10-20% de la ganancia total por el proceso total de obtención del oro^{28 y 29}.

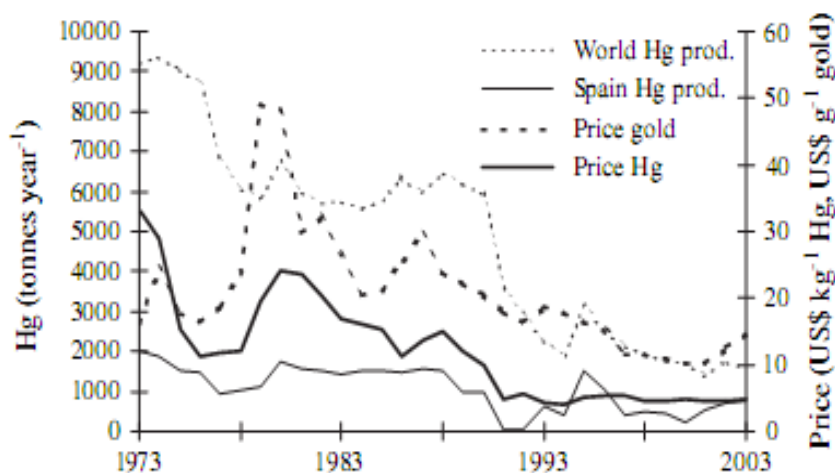


Figura 4 Producción de Hg en el mundo y en España, y un índice corregido de los precios de Hg y oro en el mercado mundial sobre 3 décadas²⁸.

En 1998 la Organización Internacional de Labores estimó que la pequeña minería es usada por alrededor de 13 millones de persona en 55 países del mundo,

sugiriendo que de 80 a 100 millones de personas dependen de esta actividad directa o indirectamente, pero debido al incremento del precio del oro en el año 2003 el número de minero artesanales también se ha incrementado. Se tiene un estimado de que las emisiones de Hg (Hg^0 y I-Hg) a nivel mundial para el año 2004 producto de técnicas de amalgamamiento ineficientes se encuentran en el rango de 800 a 1000 Ton Hg/año, de este cerca de 250 Ton Hg/año son emitidas en China siendo el mayor productor de emisiones de mercurio en el mundo, mientras entre los países de Bolivia, Brasil, Colombia, Filipinas, Perú, Venezuela y Zimbawe se emiten entre 10-30 Ton Hg/año en cada uno de estos países. Por otro lado es importante destacar que los países de la Unión Europea (UE) han cambiado gradualmente el uso del Hg por procesos más limpios, pero siguen estando entre los principales exportadores de mercurio, países que pertenecen a esta confederación, como lo son Bélgica, Holanda o España²⁸.

I.14.1 Forma de extracción del oro y su amalgamamiento en la pequeña minería

Se ha reportado que más de 30 diferentes sustancias minerales son extraídas por las operaciones de la minería a pequeña escala al año²⁸. El método aplicado por la pequeña minería es claramente diferente al que es usado por cualquier compañía minera convencional. Básicamente un minero artesanal trabaja por instinto, su principal propósito es obtener dinero para poder alimentar a su familia y pagar sus deudas. Ellos no aplican ninguna técnica clásica de exploración geológica, sin perforar, sin reservas probadas, no hacen estimación de producción de mineral de tonelaje, o estudios de ingeniería, el objetivo de la supervivencia es la fuerza impulsora de muchos de estos

mineros, mientras que otros durante épocas de baja explotación de las minas buscan otras actividades suplementarias lo que genera escasas fuentes de ingreso.

Una vez extraído el mineral de la mina este se encuentra impuro, entonces de aquí es llevado a sitios en donde se produce el amalgamiento con Hg, dependiendo del país se puede usar una difusión de Hg en cajas como lo hacen los mineros en Perú que mezclan el Hg con el mineral extraído en los “Quimbaletes” en donde un molino triturador revuelve los pedazos de roca, este mecanismo es activado con el uso de los pies del minero. Por otro lado en Indonesia es común colocar el Hg en molinos trituradores de acero introduciendo a su vez barras o pelotas de hierro, la relación $Hg_{perdido}:Au_{producido}$ es de 100:1, el cual es probablemente uno de los más altos en el mundo al año²³, mientras que el método de amalgamación que es usado particularmente por mineros de Venezuela y Zimbabwe consiste en colocar el Hg sobre una placa de cobre o bronce y se deja caer la roca triturada por un molino, en la figura 5 se muestra una imagen del molino donde entran las rocas extraídas, ya en el molino (figura 6) es mezclado con agua y se tritura la roca, para luego pasar esta mezcla sobre dicha placa de cobre amalgamada con mercurio para que en ésta se almacene la mayor cantidad de oro. El barro que pasó sobre la placa con mercurio, luego va a una fosa y se forma una laguna, esto es lo que se denomina “cola de molino” (figura 7) y ahí permanece hasta que el agua se evapora, y se saca el material “cola de molino”. Este sitio queda contaminado con mercurio y constituye una fuente constante de emisión. En El Callao, Venezuela la relación de $Hg_{perdido}:Au_{producido}$ es de 1,5:2, eso extrapolado a cifras anuales da un valor estimado de 12 Ton Hg/año lo cual representa un riesgo para las personas que habitan cerca de la zona y un gran problema de contaminación ambiental²⁹.



Figura5. Molino.



Figura 6. Molino en acción y placa amalgamada.



Figura 7. Cola de molino

Posteriormente el barro en la placa es removido y las amalgamas formadas son retiradas, después el Hg en exceso es eliminado mediante la acción de calor con cualquier tipo de soplete, durante estas dos etapas los trabajadores son expuestos a altos valores de vapores de Hg, afectándolos a ellos y las poblaciones vecinas.

II Antecedentes

En 1998 Gunilla y col³⁰, investigaron la absorción de mercurio con nueve voluntarios a los cuales se les expuso a 400 µg/m³ de vapores de Hg⁰, para monitorear la absorción por diferentes muestras biológicas, como lo son orina, sangre, plasma y exhalaciones durante un periodo de 30 días. Se observó una rápida absorción del mercurio inhalado (cerca del 69%) en la sangre y el plasma. En orina los resultados mostraron que durante los 10 primeros días de análisis se excreto una mediana del 4,6% (rango del 2,4-14%), pero el nivel de expulsión aumento a un 40% según fueron transcurriendo los días. La cantidad de Hg excretada totalmente tuvo una correlación con la exposición inicial. Además evaluaron la capacidad de absorción del mercurio en individuos con amalgamas dentales, basándose en valores del elemento en el plasma, obteniéndose como resultado una estimación entre 5 y 9 µg Hg/día, por lo cual indican que individuos que presentan estas amalgamas se encuentran expuestos continuamente a vapores de mercurio (Hg⁰). La técnica utilizada para realizar los análisis de las muestras (plasma, orina y sangre) fue espectrometría de fluorescencia atómica de vapor frío (CV-AFS).

En el año 2004, Triunfante y col², estudiaron la intoxicación con mercurio de dos pacientes que fueron atendidos de emergencia en un hospital en Portugal, ambos casos ocurrieron en 2004. El primer caso fue de un hombre de 39 años que ingirió una solución de cloruro de mercurio por voluntad propia y murió 49 días después de ser hospitalizado mientras que el segundo caso fue de una mujer de 77 años de edad quien repetidas veces aplicó una crema en su piel, pero este producto poseía altas cantidades de bromuro de mercurio, la mujer falleció a los 7 días del ingreso al hospital. Las muestras de los dos pacientes fueron obtenidas de las autopsias y estas se utilizaron con la finalidad de estudiar la toxicocinética y la nefrotoxicidad del I-Hg, determinar la razón de la muerte de los individuos y además determinar los valores de T-Hg y me-Hg en estas muestras. La técnica utilizada fue la espectrometría de absorción atómica con vapor frío (CV-ASS) y para el me-Hg cromatografía de líquido con alta eficiencia (HPLC)

acoplada con detector de UV. Los resultados obtenidos demuestran que las causas de la muerte tuvieron que ver con el grado de exposición a este metal bajo su forma inorgánica (I-Hg) alcanzando valores en sangre de 6750 µg/L y 4836 µg/L para el caso 1 y el caso 2 respectivamente. Por las cantidades encontradas para cada uno de los órganos independientemente del caso se demuestra una distribución del I-Hg a través de todo el organismo en un corto tiempo, el órgano mas afectado fue los riñones correspondiendo a 47 µg/g. Los valores de me-Hg encontrados fueron muy bajos en comparación a los valores de I-Hg.

Levy y col. en el año 2003⁷ determinaron los niveles de Hg en la orina de una población de 60 infantes (34 niños y 26 niñas) cuyas edades comprendían entre los 4 y 8 años de edad del estado de Montreal en Canadá, con la finalidad de realizar una correlación entre los niveles de mercurio excretados y diferentes parámetros como peso, edad, altura entre niños con y sin amalgamas dentales. La técnica aplicada para la determinación del mercurio en las muestras fue la espectrometría de absorción atómica con vapor frío (CV-AAS). Los resultados obtenidos mostraron que no existe una correlación entre el peso, edad y altura con la capacidad de excreción de mercurio en estos niños y tampoco existió diferencias significativas entre los niveles de Hg de los niños con y sin amalgamas, sin embargo se corroboró que los infantes que presentaban mayores valores de mercurio eran aquellos que tenían amalgamas. Ninguno de los niños sobrepasó los límites permisibles utilizado por los autores (50 y 35 µg Hg/g creat de la OMS en 1980 y ACGIH en el 2002 respectivamente), ambos límites utilizados para personas expuestas aunque fueron cercanos a los límites del programa de retiro preventivo de Quebec, Canadá (3,5 µg Hg/g creat). Por último, se verificó que el consumo de pescado es una influencia en los niveles de Hg en niños, aunque no se notó un aumento significativo en los niveles de Hg, ya que el me-Hg no es excretado por la orina.

Woods y col³¹ realizaron un seguimiento de la exposición crónica en niños que tienen amalgamas. Este estudio se llevó a cabo con 157 infantes (54% niños y 46% niñas) entre 8 y 10 años de edad y la investigación tuvo una duración de 7 años. Todos los niños seleccionados aleatoriamente eran residentes de una escuela en Lisboa, Portugal. Las muestras de orina fueron analizadas por espectrometría de absorción atómica con vapor frío con flujo de inyección (CV-AAS) y la creatinina fue medida por fotolorimetría. También se realizaron comparaciones entre los niveles de los niños ordenados, por edad, sexo, y raza. Los resultados obtenidos indicaron que durante el seguimiento existe un incremento de los niveles de Hg respecto a los niveles iniciales (tiempo cero) y esto es independiente de la edad, sexo y raza, el cual alcanza un valor máximo a los 2 años, pero después va descendiendo hasta llegar a ser constante en el tiempo. Los valores máximos para hembras y varones fueron de 3,5 µg Hg/L y 3 µg Hg/L, respectivamente, atribuyen las diferencias entre niños y niñas a que estas últimas resultan tener mayor excreción por el tipo de forma de vida que llevan como por ejemplo hábitos alimenticios. No se consiguieron diferencias significativas respecto al sexo, edad o raza de los participantes.

Xibiao en el año 2009⁵ estudiaron los efectos neurotóxicos y nefrotóxicos en niños de Shangai, China, los cuales se encontraban expuestos a mercurio debido a amalgamas dentales (N = 198), y lo compararon con niños que no tenían ninguna reparación bucal (N = 205), las edades estaban comprendidas entre los 7 y 11 años. En las muestras de orina (primera de la mañana) se realizaron análisis de T-Hg, creatinina, microalbúmina y N-acetil-β-d-glucosaminidasa, además de realizarse un examen de coeficiente de inteligencia (IQ) para evaluar dichos efectos de exposición.

Las medias geométricas de la concentración de Hg en orina para niños expuestos y población control fue de 1,6 µg Hg/g creat y 1,4 µg Hg/g creat respectivamente, por lo que no se hallaron diferencias significativas entre estos dos

grupos, el mismo comportamiento se observó con todos los biomarcadores de función renal. Las pruebas de inteligencia, neuropsicológicas y de neuroconducta resultaron iguales para ambos grupos. Ellos concluyen que no hay efectos perceptibles producto de las amalgamas dentales, sino un leve incremento en los niveles de Hg en el organismo.

En el año 2001 Abdenmour y col⁶ evaluaron a trabajadores de una planta de cloro-álcali en el noreste de Argelia, con la finalidad de conseguir marcadores de orina y relacionarlos con la exposición a vapor de mercurio (Hg^0), los marcadores estudiaron fueron proteinuria, creatinina, pH, densidad, glucosa y hemoglobina. Las edades de los sujetos comprendían entre los 32-58 años y fueron divididos en tres grupos: “Sitio 1”: Grupo control, (N = 61); “Sitio 2”: Trabajadores de la unidad de cloro-álcali, (N = 82); “Sitio 3”: Trabajadores de la planta de producción de Hg, (N = 64). Se descartaron para el estudio consumidores de pescado, fumadores o individuos con amalgamas dentales. Las muestras que proporcionaron estos individuos fueron de orina de 24 horas y sangre. El T-Hg se determinó con la técnica de espectrometría de absorción atómica con llamas (FAAS) luego de su acomplejamiento con l-cisteína. Las concentraciones medias encontradas fueron 2,1; 29,3 y 138,58 μg Hg/g creat para los sitios 1, 2 y 3 respectivamente. Encontrando que los individuos más expuestos son los que tienen mayor contacto directo con el Hg, la misma tendencia siguieron los valores de las muestras de sangre. No se encontraron diferencias significativas entre los valores de Hg reportados para sangre y orina con los posibles marcadores (pH, densidad, glucosa y hemoglobina).

Kobal³², determinó en el año 2003 los niveles de mercurio en sangre y orina de 54 mineros y 58 individuos como población control que trabajan y viven cerca a una mina de cinabrio en una población de Eslovenia, también determinó otras proteínas que son indicadores de daños renal, así como el índice de presión arterial para realizar correlaciones con los niveles de Hg. Las muestras de orina fueron tomadas entre las 8 y

10 de la mañana y se mantuvieron refrigeradas hasta su análisis mediante el método de fotocolorimétrico con ditizona y espectrofotometría de absorción atómica con vapor frío (CV-AAS). Encontró una concentración de $(2,5 \pm 1,9) \mu\text{g/L}$ como mediana con un rango $(0,1-7,2) \mu\text{g/L}$. Los autores explican que los mineros trabajan con un equipo de protección optimo para el trabajo con Hg, pero estos valores fueron obtenidos antes de una tanda de trabajo, por lo cual ellos estiman que la tasa anual de excreción producto de todas las exposiciones en el año esta en el rango de $(26-158) \mu\text{g/L}$, no se encontraron personas con síntomas de mercurialismos, ni se consiguieron personas con riegos cardiovasculares causadas por las exposiciones al Hg.

Hurtado y col. en el año 2006¹¹ estudiaron a personas que trabajan en la minería informal en el departamento Inca y Arequipa, al sureste de Perú. Tomaron muestras de orina (primera micción de la mañana) y de aire cercanas a la zona de la nariz de los individuos mientras estos realizaban sus actividades en los Quimbaletes. Se analizaron por espectrometría de absorción atómica con vapor frío (CV-AAS). Las personas fueron agrupadas y los resultados reportados se muestran en la tabla 7:

Tabla 7. Resultados obtenidos de Hg excretado en orina para los individuos divididos en grupos según su modo de vida¹¹

Grupo	Situación (N° de individuos)	Rango de edades	Media ($\mu\text{g Hg/L}$)	Rango ($\mu\text{g Hg/L}$)
1	Fundidores de amalgamas. (N = 6)	7-48	728,03	322-1662
2	Personas que viven cerca de sitios de venta de oro. (N = 6)	4-49	113,4	45-197
3	Trabajan y/o viven cerca de los Quimbaletes. (N = 15)	4-54	17,78	8-37
4	Personas que viven en el pueblo			

	minero, pero no se dedican a actividades mineras. (N = 6)	12-33	8,0	5-10
5	Grupo control. (N = 8)	3-45	4,0	3-7

Ellos indican que los valores de concentración de Hg obtenidos exceden los valores recomendados por la OMS tanto para personas expuestas como para no expuesta (50 y 5 µg Hg/L respectivamente). La concentración de Hg en orina de las personas muestreadas (11 de 41 participantes) exceden los 50 µg Hg/L (27%) y 17 de 41 (41%) exceden los 25 µg Hg/L.

En el año 2007 Ping y col³³ evaluaron el grado de exposición a Hg de los pobladores Giuzhou en China, estos trabajadores se dedican a la minería artesanal de mercurio. Se analizaron 22 individuos de esta población y 40 sujetos como población control que eran habitantes de la provincia de Changshun (a 90 Km del punto de muestreo) las muestras recolectadas fueron de orina y de cabello para determinar T-Hg y me-Hg respectivamente. Se realizaron también estudios de creatinina, β2-microglobulina (β2-MG) y estudios epidemiológicos. Las muestras fueron analizadas por CV-AAS y CV-AFS. Los autores encontraron diferencias significativas entre las medias de las muestras de orina de los dos grupos analizados (463 y 1,30 µg Hg/g creat respectivamente), lo cual muestran una seria exposición al Hg por parte de estas personas, igualmente se observaron diferencias significativas en los valores de β2-MG (248 y 73,5 µg β2-MG/g creat entre individuos expuestos y grupo control respectivamente) lo cual indica que existen posibles anomalías en los riñones de los mineros. Cabe destacar que algunos mineros estudiados presentaban ya síntomas de intoxicación con Hg.

Wängberg y col (2005)³⁴ realizaron estudios de la exposición a Hg de los habitantes que viven cerca de una planta de cloro-álcali en Suecia, así como también estudios de la emisión de Hg⁰ de esta industria. El numero de individuos (seleccionados

aleatoriamente) fue de 114 que por lo menos vivieron el año antes del estudio en un radio de 750 m alrededor de la planta, mientras que 128 personas que viven a 6 Km de la planta fueron tomadas como grupo control, para ambos grupos los individuos se dividieron en personas con y sin amalgamas dentales, las muestras de orina tomadas fueron la primera micción de la mañana, y fueron determinadas por CV-AAS. No encontraron diferencias significativas entre los valores obtenidos por los habitantes que viven cerca y lejos de la planta aproximadamente; 0,5 µg Hg/g creat para los individuos con amalgamas dentales y de 0,15 µg Hg/g creat para los que no tienen amalgamas, lo cual demuestra que estas personas no están propensas a sufrir exposición a mercurio, ya que como reportan los autores los niveles de emisión de la planta han disminuido en un 80% desde el año 1980.

Barregard y col³⁵ en el 2006 estudiaron los niveles de Hg en los pobladores que habitan cerca de una planta de cloro-álcali en Suecia y también a pobladores de Rosignano en Italia que se encuentra de 1 a 1,5 Km de distancia a la planta de cloro-álcali y como población control el área de Donoratico que se encuentra a 20 Km de Rosignano, las muestras estudiadas fueron de la primera micción de la mañana y analizadas mediante espectrometría de absorción atómica con vapor frío (CV-AAS). Los valores y las agrupaciones de la población se muestran en la tabla 8.

Tabla 8. Resultados obtenidos de Hg excretado en orina para los individuos divididos en grupos según su modo de vida³⁵

Ciudad	Tipo de población	Nº de individuos	Rango de edad (años)	Media (µg Hg/g C)	Rango (µg Hg/g C)
Rosignano	Expuesta	111	18 – 65	1,5	< 0,04 – 4

Donoratico	Control	128	18 – 65	1,4	0,1 – 9,3
Bohus	Expuesta	69	18 – 26	1,8	< 0,04 – 1,1
Nodinge	Control	91	18 – 26	1,8	< 0,04 – 0,61

También indican que los valores más altos de concentración de Hg se obtuvieron en individuos de Italia, debido a que ellos son más consumidores de pescado que los suecos. A pesar de todo esto no se encontraron diferencias significativas entre las medias de las concentraciones de ambos países, por lo cual indican que los individuos están de igual formas expuestos a Hg, tampoco se encontraron diferencias significativas en los individuos cuando se agrupaban por edad o sexo.

En el año 2006, Dalvie y Ehrlich³⁶ determinaron los niveles de mercurio en orina de habitantes perteneciente a dos poblaciones semi-urbanas en la capital de Sudáfrica. El primer grupo (N = 90) viven en el área industrial, mientras que el segundo grupo, con la misma cantidad de participantes (N=90) fue tomado como grupo control debido a que viven alejados de cualquier tipo de actividad industrial. Los autores reportan que las fábricas desechan algunos productos no deseados hacia las aguas y estas llegan a los embalses que suplen de agua de consumo a estas comunidades. Esta no es la única forma de contaminación, ya que existen otras fuentes que son producto de la quema de combustibles fósiles. Las muestras de orina fueron tomadas entre las 10 de la mañana y 2 de la tarde por enfermeras especializada, además determinaron los niveles de creatinina en dichas muestras bajo técnicas espectroscópicas. Ellos encontraron que los niveles de Hg en la orina son inferiores a los que establece la Organización Mundial de la Salud (< 5 µg Hg/g creat) tanto en el grupo de la población expuesta como en la población control (1,1 µg Hg/g creat y 0,25 µg Hg/g creat respectivamente). Cuando se analizaron los resultados de las dos zonas se evidenciaron que los resultados son estadísticamente iguales, por esto se demuestra que no existe

exposición por estas fuentes de contaminación, aunque los valores son ligeramente superiores en la zona expuesta.

Counter y Buchanan³⁷ determinaron los niveles de mercurio en diferentes tipos de muestras, con la finalidad de determinar cuales de estas constituyen una mayor fuente de contaminación por Hg, y así establecer el riesgo al cual están expuestos la población consumidora de estos alimentos, especialmente los niños que suelen ser los más afectados por la ingesta indirecta de Hg. Los valores obtenidos por estos investigadores y fueron comparados con los reportados por la administración de drogas y alimentos de los Estados Unidos de America. El número de muestras analizadas para cada tipo de comida fue cincuenta (50), lo cual nos indica que los resultados son representativos del todo. Los resultados obtenidos fueron menores a los valores reportados por estas organizaciones. Por otro lado, en esta publicación se menciona que existe una cantidad considerable de mercurio en las amalgamas dentales, pero ellos no realizan alguna determinación de este metal en algún infante o persona adulta.

Bose-O'Reilly y col³⁸ determinaron los niveles de mercurio en 166 niños y adolescentes entre 9 y 17 años provenientes de Zimbawe e Indonesia. Se realizaron análisis en orina de 24 horas, cabello y sangre. Los resultados obtenidos se compararon con los de una población control. Los autores reportan que muchos de estos niños ya trabajan en la minería, haciendo el oficio tanto de amalgamamiento o de incineración de las amalgamas, a medio tiempo y tiempo completo, por lo cual los niveles de exposición que tienen al Hg son muy altos; igualmente los autores reportan que los niños juegan en ocasiones con el metal. Las muestras fueron analizadas por la técnica de espectrometría a absorción atómica con vapor frío (CV-AAS). Los niños-adolescentes fueron divididos en tres grupos: control (CG): que se encuentran en áreas de no exposición (N = 50); "solo viven" (EG) que esta viviendo en áreas expuestas, pero no trabajan (N = 36); y por último niños que viven en áreas mineras y además se

dedican a la minería (WG) con 80 individuos. Los resultados de los valores obtenidos se resumen en la tabla 9.

Tabla 9. Resultados obtenidos de los niveles de mercurio en las diferentes tipos de muestras analizadas³⁸

Grupo	Hg en Orina (µg/g creat)	Hg en orina (µg/L)	Hg en cabello (µg/g)	Hg en sangre (µg/L)
CG	0,35	0,40	1,08	3,47
EG	5,31	6,49	2,31	5,25
WG	7,06	10,05	2,34	7,75

Encontraron diferencias significativas entre los niños expuestos y la población control lo cual indica el riesgo al cual se encuentran estos niños. No se encontraron diferencias significativas relacionadas con la edad, peso y altura de los individuos. Los autores observaron al analizar los resultados obtenidos que los niveles de Hg en el cabello, por la exposición a me-Hg es muy baja debido a que casi todo es I-Hg en dicha muestra. Los resultados muestran una cierta exposición a este elemento mayormente marcada en los niños que trabajan.

En el 2004 la organización de desarrollo industrial de las naciones unidas (por sus siglas en ingles UNIDO)²⁹ estudiaron los niveles de mercurio en 209 individuos (66 mujeres, 62 niños, 48 molineros y 33 mineros) pertenecientes al bloque B de El Callao, estado Bolívar, Venezuela, 165 de estos sujetos fueron seleccionados para la

aplicación de exámenes neuropsicológicos. Se tomaron muestras de orina puntual (primera de la mañana) y se analizaron por espectrometría de absorción atómica, también determinaron creatinina para normalizar los valores de la concentración de Hg en la orina. El resultado promedio de la concentración de U-Hg fue de $(105 \pm 378) \mu\text{g Hg/g creat.}$ Los individuos fueron agrupados y clasificados según los valores de referencia establecidos por la OMS, Los resultados son expuestos en la tabla 10.

Tabla 10. Resultados de los niveles de excreción de Hg en el Bloque B, de El Callao reportados²⁹

Nivel	Valor Crítico ($\mu\text{g Hg/g creat}$)	% Población	Nº de Individuos
Alerta	> 5	61,7	130
Acción	> 20	38,3	79
Máximo	> 50	20,6	44
No mencionado	> 100	15	31

También los individuos fueron agrupados en niños, mujeres, molineros y mineros de todos estos resultados, se destaca que 30% de los mineros (10 individuos) excedieron los niveles de acción ($20 \mu\text{g Hg/g creat}$), mientras que 52% de los molineros (25 individuos) excedieron los $100 \mu\text{g Hg/g creat}$, en cuanto a las personas no expuestas directamente al vapor de mercurio como lo son mujeres y niños se observaron que 21% y 14,5% respectivamente se encontraban por encima de los niveles de acción (14 mujeres y 9 niños). Los signos neurológicos encontrados en 25% de las mujeres y niños y 28% de los molineros y mineros sufren de ataxia, temblores en las manos y en los ojos, discapacidad para tocarse la nariz con los dedos (examen de nariz-dedo) entre otros.

Rojas y col³⁹ realizaron un monitoreo biológico de individuos que se realizaron análisis de Hg en el Centro de investigaciones de la Universidad de Carabobo (CITUC por sus siglas en ingles) en Valencia, estado Carabobo, Venezuela, se recolectaron los datos desde 1998 hasta el 2002 y fueron publicados en el 2005. Se tomaron muestras de orina de primera micción de la mañana y fueron analizadas por CV-ASS y se determinó mercurio total (T-Hg). Se analizó un universo de 1159 individuos de los cuales 65 eran niños (1-12 años), 699 adultos masculinos (18-63 años) y 395 mujeres (15-79 años), además los individuos fueron ordenados por estado de procedencia.

Entre los resultados reportan que en los niños se encuentran una media de 2,77 $\mu\text{g Hg/g creat}$ (rango = 0,24-20,08 $\mu\text{g Hg/g creat}$), mientras que para hombres y mujeres las medias fueron de 3,45 (rango = 0,07-230,10) y 2,15 (rango = 0,13-98,80) $\mu\text{g Hg/g creat}$ respectivamente. En cuanto a los valores respecto a los lugares de procedencia de los individuos, reportan que no encontraron diferencias significativas entre ellos, excepto para el estado Carabobo y Bolívar en los que se consiguieron los niveles mas altos de concentración de U-Hg que fueron de 9,60 (5,05-78,15) y (5,56-230,10) $\mu\text{g Hg/g creat}$ respectivamente. Los autores explican que en el primer estado habían muchos pacientes que eran odontólogos o vinculados a esta área mientras que en el segundo estado todos los sujetos trabajaban en actividades mineras, de estos últimos se reportan dos casos de mineros que presentan valores de mercurio en orina superior a 100 $\mu\text{g Hg/g creat}$ siendo uno de ellos igual a 230 $\mu\text{g Hg/g creat}$ (valores mas altos de los resultados).

Álvarez. y Rojas⁴⁰ en el año 2006 estudiaron el grado de exposición que presentaron los habitantes de los asentamientos indígenas del Casabe y del Plomo en el estado Bolívar. Estas poblaciones indígenas viven cerca de lugares donde se realizan actividades mineras. Se analizaron muestras de cabellos y de orina de un total de 56 muestras, distribuidas entre 29 indígenas de el Casabe y 27 del pueblo del

Plomo. Emplearon la CV-AAS para la determinación de la concentración de Hg. Los valores promedios encontrados para las muestras de cabello de las poblaciones de El Casabe y El Plomo fueron 6,5 y 5,8 $\mu\text{g Hg/g creat}$ respectivamente, no encontraron diferencias significativas en los niveles de mercurio en cabello, contrario a cuando se realizó la comparación por géneros, mostrando que las mujeres presentaban en promedio mayor contenido de Hg que los hombres. Los primeros valores cercanos a los 6 $\mu\text{g/g}$, en cambio en los individuos de género masculino se encontró un valor de 2,7 $\mu\text{g/g}$ aproximadamente. Por otro lado, los valores obtenidos de orina fueron de 14 $\mu\text{g/L}$ (rango = 0-46,1 $\mu\text{g/L}$) para la población del Casabe y 6 $\mu\text{g/L}$ para los pobladores del Plomo (rango = 0-45,8 $\mu\text{g/L}$) los cuales se encuentran por debajo de los valores estimados por la OMS (1990) para poblaciones expuestas (25 $\mu\text{g/L}$) aunque superan los valores establecidos para poblaciones no expuestas (4 $\mu\text{g/L}$), lo cual según los autores refleja la manipulación con el mercurio metálico que existe en las zonas.

Agreda y col¹⁷ en el año 2008 determinaron los niveles de Hg en orina en 108 niños (54 hembras y 54 varones) del municipio San Diego, del estado Carabobo, Venezuela, los cuales no se encontraban bajo ningún tipo de exposición al Hg, para ello realizaron un estudio epidemiológico en donde se descartaron los niños con cualquier exposición. Ellos recolectaron la primera micción de la mañana y el Hg fue determinado por espectrofotometría de absorción atómica de vapor frío, también se determinó la creatinina con el método de Jaffe modificado. Los resultados reportados agrupados tanto por grupos de edad y sexo se muestran en la tabla 11.

Tabla 11. Valores de excreción de U-Hg en niños y niñas del municipio San Diego, Edo Carabobo, Venezuela¹⁷

Parámetro	Numero	Media geom	Rango	Media geom	Rango
-----------	--------	------------	-------	------------	-------

		U-Hg (µg/L)	(µg/L)	U-Hg (µg/g creat)	(µg/g creat)
Sexo Fem	54	1,22	---	1,31	
Sexo Mas	54	1,15	---	1,13	
Edad (6-7)	30	0,90	0,17-3,1	1,06	0,12-4,85
Edad (8-9)	37	1,19	0,16-7,19	1,30	0,16-5,70
Edad (10-12)	41	1,45	0,16-5,52	1,28	0,17-4,64
Total	108	1,18	0,16-7,19	1,22	0,12-5,70

Los autores reportan que solo 7 niños presentaron valores mayores a los límites permisibles tomados por ellos (4 µg Hg/L; ATSDR) y solo un niño superó el otro valor umbral (5 µg Hg/g creat; Legislación Oficial de la Republica de Venezuela). Estos resultados fueron consistentes con otros estudios de población infantil no expuesta a Hg.

Una vez hecha la revisión bibliográfica podemos destacar los siguientes aspectos:

- ✓ El mercurio es un metal tóxico bajo cualquiera de sus especies (Hg⁰, I-Hg y O-Hg).
- ✓ La minería artesanal utiliza grandes cantidades de Hg, el cual gran parte es desechado al ambiente y en el pueblo del El Callao, se llevan a cabo estas actividades.
- ✓ El personal que trabaja con Hg se ve seriamente afectado debido a una exposición prolongada al metal.
- ✓ El mercurio no simplemente afecta a personal que trabaja directamente con el, sino a las poblaciones que habitan cerca de donde hay esta manipulación.

- ✓ Los niños son la parte de la población más afectada por la exposición con Hg.
- ✓ Las técnicas por excelencia para la determinación de Hg son la espectroscopía de absorción atómica con vapor frío (CV-AAS) y la espectroscopía de fluorescencia atómica con vapor frío (CV-AFS).
- ✓ Para la determinación de una exposición crónica al Hg la matriz utilizada es la orina.

III Objetivos

En el pueblo El Callao se practican las actividades de minería artesanal a pequeña escala, en la cual el Hg puede afectar a la población, y por ende a la población infantil, razón por la cual nos hemos planteado como objetivo la estimación de los niveles de mercurio en orina de niños de la población de El Callao.

Para desarrollar este objetivo realizamos los siguientes objetivos específicos:

- Determinar las figuras de mérito del método de determinación de la concentración de Hg por CV-AAS y CV-AFS: límites de detección, cuantificación, sensibilidad, precisión y exactitud.

- Seleccionar un método estadístico para obtener un número representativo de la población de niños con edad escolar que habitan en el casco histórico del pueblo de El Callao.
- Diseñar una encuesta epidemiológica con la finalidad de coleccionar datos de identificación de niños y padres; ubicación de la vivienda de habitación del niño con respecto a posibles fuentes de emisión de Hg, hábitos alimenticios etc.
- Realizar tres muestreos para la recolección de las muestras de orina seleccionadas de tal forma de obtener el mayor número de muestras posibles.
- Determinar los valores de creatinina en la orina de 24 horas de niños de la población El Callao para relacionarla con los niveles de mercurio.
- Calcular los valores de mercurio en orina en $\mu\text{g/L}$ y en $\mu\text{g Hg/g creat.}$
- Estudiar la posible correlación de los niveles de Hg en orina de los niños seleccionados con los parámetros: ubicación de la escuela, ubicación de la vivienda de habitación del niño y la profesión de los padres.

IV Parte experimental

IV.1 Instrumentación

Para la determinación de la concentración de mercurio se utilizó un espectrofotómetro de absorción atómica con generación de vapor frío, Perkin Elmer, modelo FIMS – 100 Flow Injection, el cual se muestra en la figura 9, las condiciones experimentales utilizadas se presentan en la tabla 12 y un diagrama funcional del equipo en la figura 10. Las medidas de fluorescencia atómica se realizaron con un espectrofotómetro de fluorescencia atómica con generación de vapor, Analytikjena AG,

modelo Mercur. En la figura 11 y 12 se presenta una vista de este equipo y el diagrama funcional del mismo respectivamente mientras que en la tabla 13 y 14 las condiciones experimentales utilizadas. Y se utilizó un espectrofotómetro de UV-visible, de doble haz, SHIMADZU modelo UV-150-02 (UV-VIS) para la determinación de la creatinina, el cual se muestra en la figura 13, y las lecturas se hicieron a una longitud de onda de 510 nm.



Figura 9. Espectrómetro de absorción atómica con generación de vapor, Perkin Elmer, modelo FIMS-100.

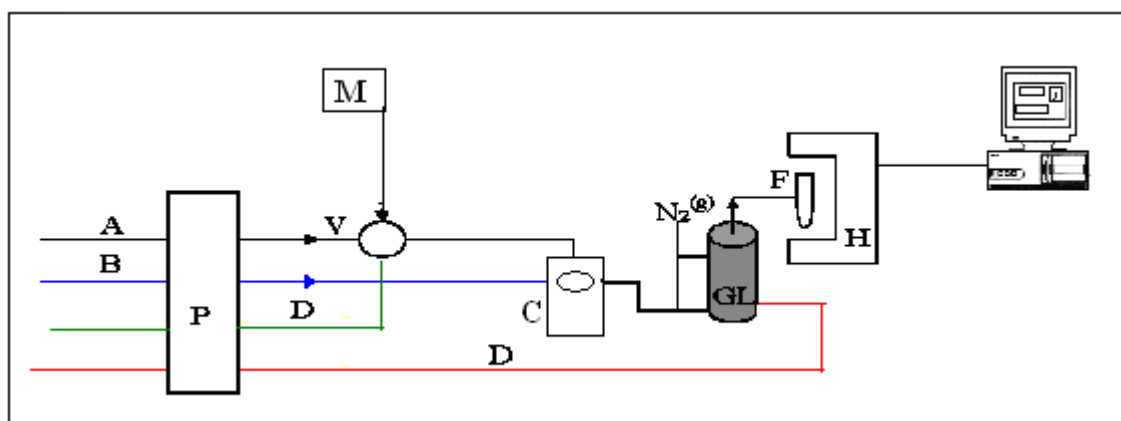


Figura 10. Diagrama esquemático del sistema de flujo de inyección. Cada parte del equipo significan: A: Solución ácida, B: Agente reductor, C: Reactor, D: Desechos, GL:

Separador gas-liquido, F: Celda de atomización, H: Espectrómetro de absorción atómica, V: Válvula de inyección, P: Bomba peristáltica, M: Muestra.

Tabla 12. Condiciones de operación para el espectrómetro de absorción atómica con generación de vapor, Perkin Elmer, modelo FIMS-100

Parámetros	Valor
Longitud de onda (λ)	253,7 nm
Conc NaBH ₄ en NaOH	0,2% p/v en 1% p/v
Conc HCl	5% p/v
Flujo de NaBH ₄	5 mL/min
Flujo de HCl	9 mL/min
Flujo de gas de arrastre (N ₂)	50 mL/min
Volumen de muestra	200 μ L
Tipo de señal	Altura de pico
Tiempo de integración	20 s
Temperatura de la celda	100° C
Velocidad de la bomba peristáltica	120 rpm
Programa	AA win – Lab Analyst



Figura 11. Espectrofotómetro de fluorescencia atómica con generación de vapor (CV-AFS), Analitikjena AG, modelo Mercur.

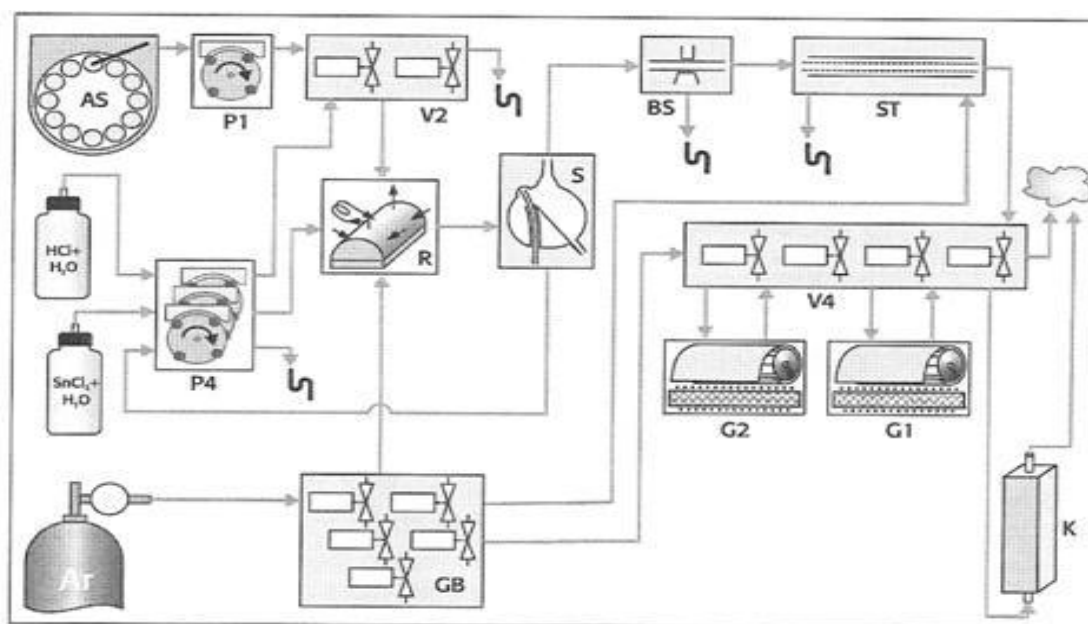


Figura 12. Diagrama funcional del equipo de CV-AFS¹⁹. Cada parte del equipo significan: AS: Automuesteador, P1 y P4: Bombas peristálticas, R: Reactor, S: separador gas-liquido, V2 y V4: Válvulas, BS: Censor de burbuja, G1 y G2: 1er y 2ndo colector de Oro, ST: Secador de membrana, K: Celda de atomización.

Tabla 13. Condiciones instrumentales para la determinación de mercurio por espectrofotometría de fluorescencia atómica con generación de vapor

Parámetros	Valor
Longitud de onda	253,7 nm
Conc de SnCl ₂ en HCl	2% p/v en 1,8% p/v
Conc de HCl	1,8% p/v
Flujo de SnCl ₂	3 mL/min
Flujo de HCl	3 mL/min
Solución Limpiadora	2% p/v de HNO ₃ y 2% p/v de HCl
Tipo de lámpara de Hg	Hg-LP

Tabla 14. Condiciones experimentales

Parámetros	Valor
Programa (versión)	WinAAS (Mercur 3.22.0)
Modo de operación	Sin enriquecimiento; Método FBR
Voltaje del detector	433 V
Estadística	1 Ciclo blanco y 2 Ciclos de medidas
Tipo de lectura	Altura de pico
Tiempo de carga	28 s

Tiempo de reacción	5 s
Tiempo de espera	6 s
Tiempo de enjuague 1	5 s
Flujo de gas de arrastre (Ar)	10 L/h



Figura 13. Espectrofotómetro de UV-visible de doble haz, marca SHIMADZU modelo UV-150-02 (UV-VIS).

Para la digestión de las muestras se usó un equipo de ultrasonido Cole-Palmer, modelo 8891, con un porta muestra de rejilla metálica en donde se colocaron los tubos con las muestras a digerir, una vista del equipo se presenta en la figura 14.



Figura 14. Ultrasonido, marca Cole-Palmer, modelo 8891.

Para las Medidas de las densidades de las muestras de orina se utilizó un densímetro ATAGO, modelo URC-NE que mide densidades desde 1,000 hasta 1,050 g/mL, en la figura 15 se muestra una vista del mismo.



Figura 15. Densímetro ATAGO, modelo URC-NE.

IV.2 Reactivos y materiales

Todos los reactivos fueron de grado Pro análisis (P.a.) y el agua utilizada en las soluciones fue agua desionizada 18 mΩ. (Sistema Nanopure Barnstead) y grado Mili-Q (Milipore). Ácido nítrico (HNO_3) al 65%, Ácido sulfúrico (H_2SO_4), (95-97)%, Ácido clorhídrico (HCl), 37% de la Riedel- de Haën. Solución de permanganato de potasio (KMnO_4) al 5% (p/v) preparada a partir de la sal al 99% de pureza J. T. Baker. Solución patrón de 1000 mg/L de Hg en forma de $[\text{Hg}(\text{NO}_3)_2]$ al 10% de HNO_3 . Cloruro de estaño (SnCl_2) anhidro al 99% SIGMA. Peróxido de hidrogeno (H_2O_2) al 30% Riedel- de Haën. Borohidruro de sodio al 99% Hopkin & Willians. Dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) al 99% Merck. Estándar de creatinina al 99% Riedel- de Haën. Ácido pícrico ($\text{C}_6\text{H}_3\text{N}_3\text{O}_7$) al 99% Riedel- de Haën. Hidróxido de sodio (NaOH) al 99% Merck.

IV.3 Procedimientos

IV.3.1 Zona de muestreo

La población estudiada fueron niños en edad escolar (edades entre 5 y 13 años), todos habitantes del pueblo de El Callao en el estado Bolívar, Venezuela. La ubicación geográfica del pueblo de El Callao se encuentra en la figura 16. Estos niños muestreados estudian en colegios pertenecientes al casco histórico de El Callao, cuya ubicación se muestra en la figura 17.

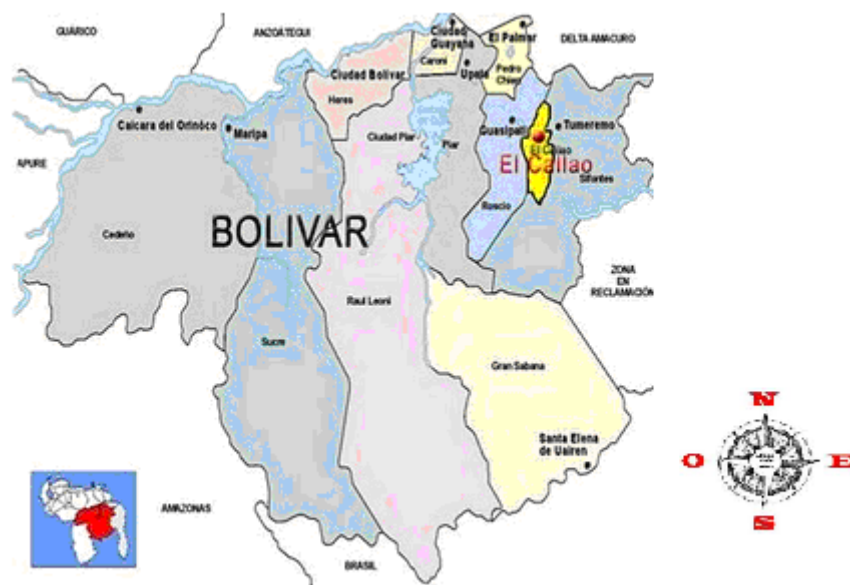


Figura 16. Ubicación geográfica de El Callao, Estado Bolívar, Venezuela⁴¹.

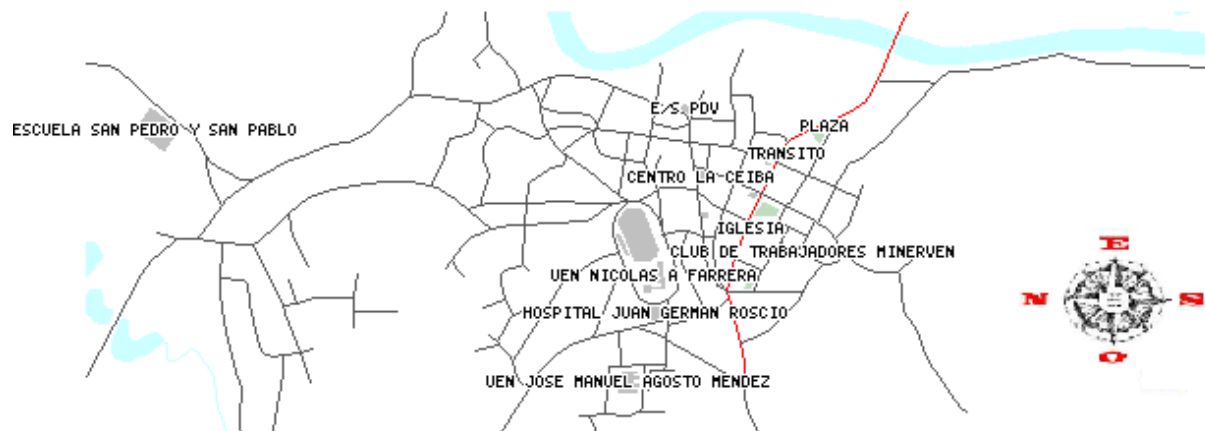


Figura 17. Vista área de los colegios en los cuales estudiaban los niños muestreados.

IV.3.2 Selección de la población

Todo estudio epidemiológico lleva implícito en la fase de diseño la determinación del número de sujetos necesarios para la ejecución del mismo. Al no realizarse dicho proceso, pueden ocurrir dos situaciones: la primera que no se realice el estudio sin el número adecuado de pacientes, con lo cual no se podrían encontrar diferencias significativas cuando en realidad sí existen. La segunda es que se podrían estudiar un número innecesario de pacientes, lo cual lleva implícito pérdida de tiempo e incremento de recursos innecesarios⁴². Para la determinación del número de niños a estudiar se utilizó la siguiente ecuación:

$$n = \frac{N * Z_{\alpha}^2 * p * q}{d^2 * (N - 1) + Z_{\alpha}^2 * p * q} \quad (3)$$

Donde:

n: Número de niños a muestrear

N: número total de la población.

Z_{α}^2 : Coeficiente que depende del nivel de confianza (al 95%, el valor de Z_{α}^2 es 1,96).

p: El valor de “p” nos da una idea del parámetro que queremos medir, esta idea se puede obtener revisando la literatura o por estudios previos con poblaciones, en caso de no tener dicha información se utiliza el valor de 0,5 (50%)

q: (1-p).

d: precisión, para este caso es del 3%.

El numero obtenido es de 87 niños de un total 1682 infantes que pertenecen a las cuatro (4) instituciones muestreadas estos corresponden a un 5% de la población

total de infantes. Para seleccionar a los niños se usaron los listados de todos los colegios, tomando en cuenta la edad, sexo, dicha selección se realizó siguiendo un procedimiento de muestreo aleatorio, para ello se empleó la tabla de números aleatorios (apéndice 1).

La selección de los niños se realizó primero con la asignación a cada niño un numero desde el 1 hasta el N, y luego con la tabla de números aleatorios la cual está hecha de modo que todos los números 0, 1, 2,.....9, aparecen aproximadamente con la misma frecuencia. Combinando pares de números se tienen los números 00 hasta 99. Usando los números de tres en tres, se tienen los números desde 000 hasta 999, etc. El ingreso en dicha tabla se realiza de manera aleatoria. Una forma es colocar en cualquier punto de la tabla un lápiz y con un desplazamiento de éste hacia abajo se seleccionan los números que se requieren con la misma cantidad de dígitos cuyo valor esté dentro de N. Al finalizar la fila se salta a la columna siguiente y se comienza desde arriba. Sí un número se repite debe eliminarse y continuar. Estos niños seleccionados fueron posteriormente localizados.

La ventaja de este método es que permite que exista una aleatoriedad en la escogencias de los individuos. Sin embargo, uno de los problemas que nos encontramos fue que muchas veces los representantes de los niños seleccionados (y en consecuencia ellos mismo) no asistían a las reuniones dispuestas para explicarles acerca de la recolección de las muestras, por lo tanto se realizó otro listado de niños “suplentes” que se disponía para cubrir la vacantes de los ausentes. En La tabla 15 se muestra el número de niños muestreados por colegio.

Tabla 15. Número de niños seleccionados y muestreados por cada colegio

Nombre del Colegio	Nº de Niños seleccionados	Nº de niños muestreados
Alfredo Machado	34	26
Barrio Obrero	5	4
José Agosto Méndez	8	8
Nicolás Farreras	54	40
Total de niños	101	78

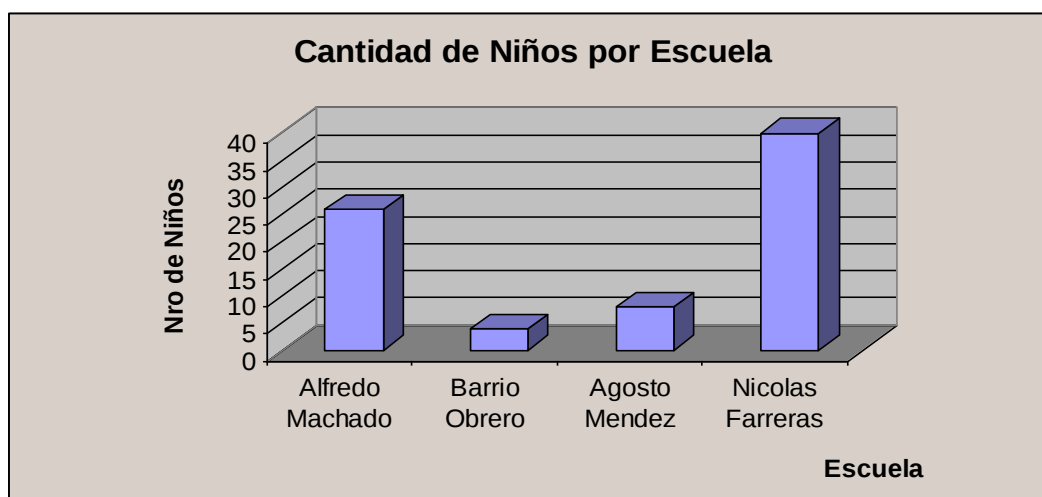


Figura 18. Representación gráfica de la distribución de niños muestreados respecto a la institución a la cual pertenecen.

IV.3.3 Encuesta epidemiológica

Se elaboró una encuesta epidemiológica con la finalidad de obtener los datos generales de la población en estudio y además ubicar las posibles fuentes de emisión de mercurio, entre ellas tenemos los siguientes aspectos (véase apéndice 2).

Aspectos relacionados con el infante: Sexo, edad, lugar de nacimiento y tiempo de vida en El Callao.

Aspectos relacionados con las fuentes de emisión: Ubicación de la vivienda habitacional del niño con respecto a posibles fuentes de emisión de Hg y profesión de los padres.

Aspectos relacionados con los padres de los infantes: Edad, números de hijos, tipo de trabajo, tiempo en esos trabajos.

Aspectos relacionados con la salud: amalgamas dentales, tipo de alimentación, ingesta, de medicamentos y algunos síntomas relacionados con la contaminación mercurial tales como migrañas, perturbaciones visuales o pérdida del equilibrio.

IV.3.4 Descripción de las muestras

Las muestras de orina fueron recolectadas en recipientes de vidrio ámbar durante 24 horas lo que implican todo un ciclo diario de micciones y correspondían a niños en edad escolar que estudian en colegios pertenecientes al casco histórico de El Callao, estado Bolívar, Venezuela.

IV.3.5 Recolección de las muestras

Inicialmente los recipientes de vidrio ámbar fueron identificados con un código único, luego se pesaron los recipientes antes y después de la entrega y además los representantes fueron instruidos acerca de la forma de la toma de la muestra, la cual implica el desecho de la primera micción, tomar todas las demás micciones hasta la primera del día siguiente, y el frasco se mantiene refrigerado durante la toma de la muestra.

IV.3.6 Almacenamiento de las muestras

Una vez entregada la muestra se tomaba una cierta cantidad para realizarle una medida de densidad con el densímetro para así calcular el volumen de orina excretada durante las 24 horas. Luego se tomó una alícuota de estas muestras y se llevaron a otros recipientes de menor capacidad (150 mL) a los cuales se le colocaron aproximadamente 1 mL de HNO_3 concentrado para la conservación del mercurio, posterior a esto se mantuvo refrigerada hasta su análisis a una temperatura de 4°C aproximadamente. Por otro lado las muestras que se utilizaron para la determinación de la creatinina, se tomaron a partir del recipiente inicial y se colocaron en recolectores de orina de plástico, y se llevaron a un congelador a -35°C hasta su posterior análisis.

IV.3.7 Lavado del material

Los envases para la recolección y análisis de mercurio utilizado fueron sumergidos en cloro de uso domestico durante 24 horas, para la eliminación de las bacterias y posteriormente se sumergieron durante 24 horas en una solución de ácido nítrico a 10% v/v. Luego se lavó con agua destilada y los recipientes se secaron a temperatura ambiente y/o en una estufa a 60°C .

IV.4 Procedimientos para la determinación de la concentración de mercurio en orina

IV.4.1 Tratamiento de las muestras

Para la digestión de las muestras de orina se siguió el procedimiento optimizado por Hernandez⁴³, el cual se describe a continuación:

Inicialmente las muestras se llevaron a temperatura ambiente y se homogenizaron por agitación, luego se pesaron aproximadamente 10 mL de muestra en un tubo de ensayo, posteriormente se colocaron en un baño de hielo y se añadieron 2 mL de una mezcla oxidante de $\text{HNO}_3:\text{H}_2\text{SO}_4$ (2:1). Se tapó con papel parafilm. Luego se colocaron en un baño de ultrasonido por espacio de una hora a 60° C. transcurrido el tiempo se añadió 1 mL de una disolución de KMnO_4 al 1% p/v, se colocó nuevamente en el ultrasonido durante 20 minutos más. Luego se añadió 50 μL de H_2O_2 al 30% p/v para eliminar el exceso de KMnO_4 y se colocó nuevamente en el ultrasonido otros 20 minutos más. Para finalizar se tomó el peso total de la disolución. De la misma manera se realizó un blanco con todos los reactivos empleados.

IV.4.2 Procedimientos de lectura mediante CV-AAS

Las muestras digestadas fueron introducidas al espectrofotómetro de absorción atómica por medio de una bomba peristáltica y arrastrada a su vez por la solución ácida, hasta llegar al reactor donde se encuentra con el NaBH_4 y se produce el Hg^0 el cual posteriormente es arrastrado hacia la celda de absorción mediante un gas inerte, luego se tomó las lecturas de absorbancia como altura de pico y se procesó la señal.

IV.4.3 Procedimientos de lectura mediante CV-AFS

Para la realización de las medidas en el espectrofotómetro de fluorescencia atómica, las muestras fueron diluidas por peso, de tal forma que la señal obtenida de esta dilución estuviera dentro de la curva de calibración. Las muestras fueron introducidas al espectrofotómetro mediante un automuestreador y fue aspirada mediante una bomba peristáltica hasta llegar al reactor en donde entró en contacto con el SnCl_2 para producirse el vapor de mercurio el cual fue arrastrado por un gas inerte hasta la celda de absorción, después de esto se realizó el procesamiento de la señal como altura de pico.

IV.4.4 Cuantificación del mercurio en las muestras de orina y preparación de la curva de calibración

La determinación de la concentración de mercurio se realizó por el método de calibración directa, el cual consiste en la realización de una curva de calibración lineal a través de la preparación de patrones de concentración conocida por dilución de una solución de concentración de 0,25 mg/L (250 $\mu\text{g/L}$). Cuando se obtiene la señal de la muestra digestada, es posible determinar el valor de la concentración mediante una regresión. La concentración de los patrones se muestra en la tabla 16, donde: la disolución de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ al 5% p/v fue usada para preservar el Hg y la solución ácida es la misma mezcla que fue usada para las muestras $\text{HNO}_3\text{:H}_2\text{SO}_4$ (2:1). Un modelo de la curva de calibración típica se muestra en la figura 19, Como podemos observar por el coeficiente de correlación (R^2) es cercano a la unidad lo cual nos indica el grado de ajuste del modelo y por lo tanto es posible hacer una regresión lineal y así calcular la concentración de la muestra por interpolación solución a partir de los valores de señal obtenida.

Tabla 16. Volúmenes de soluciones usadas para la preparación de cada patrón

Conc Patrón (µg/L)	V _{ácido} (mL)	V _{madre} (µL)	V _{K₂Cr₂O₇} (µL)	V _{final} (mL)
Blanco	10	0	300	50
0,1	10	40	300	50
0,5	10	100	300	50
1,0	10	200	300	50
3,0	10	600	300	50
5,0	10	1000	300	50

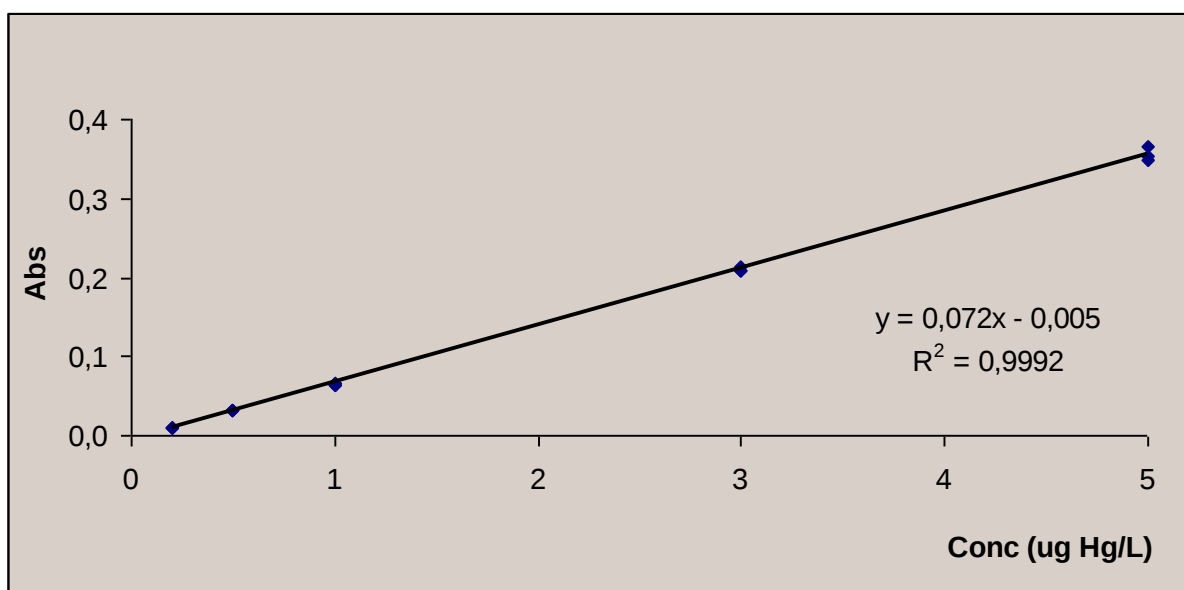


Figura 19. Representación típica de una curva de calibración usada para la cuantificación del Hg.

IV.5 Procedimientos para la determinación de la concentración de creatinina en orina

IV.5.1 Tratamiento de las muestras

El tratamiento seguido se tomó del método de Jaffé modificado que se describe a continuación:

Las muestras se llevaron a temperatura ambiente y se homogenizaron por agitación, luego se agregó 5 mL de una disolución de ácido pícrico al 1% p/v en un balón de 25 mL. Después se adicionó 0,38 mL (380 μ L) de hidróxido de sodio al 2,5 M, y se agregó una alícuota de la muestra 0,3 mL (300 μ L). En el caso en el que se obtuvieron señales fuera de la curva de calibración se tomaron mayores o menores alícuotas, según el caso. La mezcla se dejó en reposo durante media hora, para garantizar que se completara la reacción, luego se enrazó con agua desionizada a un volumen final de 25 mL, esta solución fue introducida en una celda de plástico y se midió en el espectrofotómetro de UV-Visible a la longitud de onda de 510 nm (se preparó una solución “blanco” que contenía todos los reactivos).

IV.5.2 Procedimientos de lectura mediante espectroscopía de absorción molecular

Una vez completada la reacción, la disolución era introducida en la celda de plástico hasta un 75% del volumen y se midió a 510 nm, con el uso de una lámpara de Wolframio.

IV.5.3 Cuantificación de la creatinina en las muestras de orina y preparación de la curva de calibración

Se siguió el mismo método de preparación de patrones y realizándose una curva de calibración, a partir de una solución madre de 500 mg/L de creatinina, preparada a partir del estándar sólido. En la figura 20 se muestra una curva típica de calibración y se prepararon los patrones de calibración como se muestra en la tabla 17.

Tabla 17. Preparación de los patrones de calibración para medir la concentración de creatinina

Conc Patrón (mg/L)	V _{acPícr} (mL)	V _{NaOH} (μl)	V _{Madre} (μl)	V _{final} (mL)
Blanco	5	380	0	25
3	5	380	100	25
5	5	380	250	25
10	5	380	500	25
20	5	380	1000	25

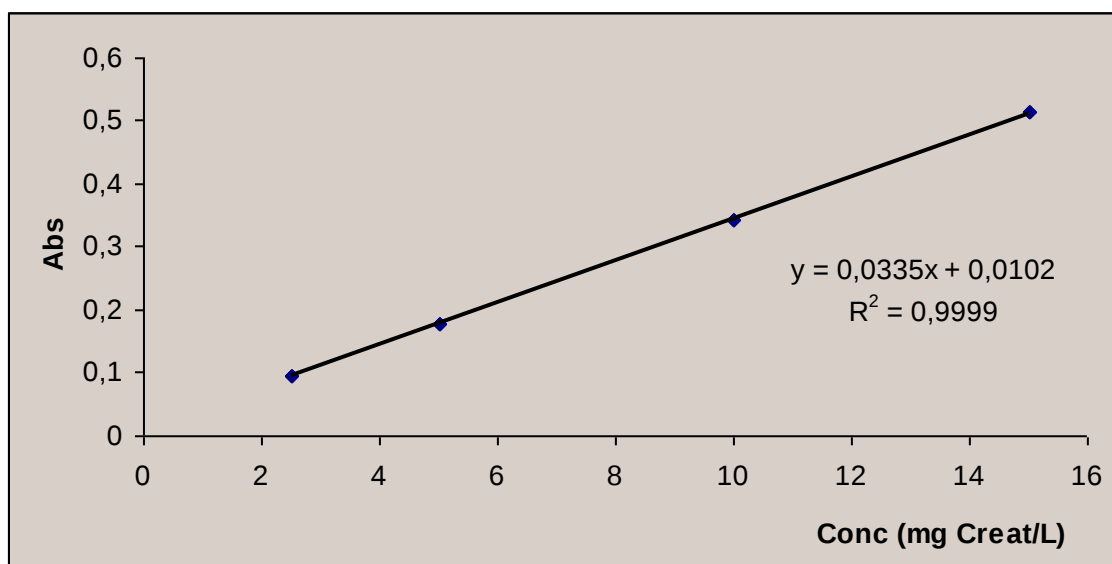


Figura 20. Representación típica de una curva de calibración usada para la cuantificación de la creatinina.

IV.6 Análisis estadístico

El estudio de las correlaciones entre las variables se realizó con el programa estadístico STATGRAPHICS Versión 5.5.

V Discusión de resultados

V.1 Figuras de merito

V.1.1 Límites de detección y de cuantificación

El valor del límite de detección (LOD) y del límite de cuantificación (LOQ) para la determinación de Hg mediante ambas técnicas (CV-AAS Y CV-AFS) se calculó, según la definición dada por Kaercher²⁴. Se utilizaron las ecuaciones 4 y 5 respectivamente, mientras que el valor de LOD y LOQ, para la determinación de creatinina se calcularon

mediante un método gráfico⁴⁴, para ello se realizó una curva con dos patrones por debajo del rango mostrado en la tabla 17. Los resultados de los LOD y LOQ se muestran en la tabla 18. Como se puede observar el límite de detección obtenido para la técnica de espectroscopía de fluorescencia atómica es menor al de la técnica de espectroscopía de absorción atómica lo cual corrobora que la primera técnica es más sensible. El valor del LOD de la técnica de CV-AFS fue similar al obtenido por Cardozo y Lima en sus trabajos (0,04 y 0,07 µg Hg/L respectivamente^{45 y 46}), mientras que el valor del LOD de la técnica de CV-AAS obtenido fue ligeramente superior al obtenido por Hernandez⁴³ en su trabajo (0,12 µg Hg/L). Por otro lado también es posible observar que los valores de LOD y LOQ para la determinación de creatinina son muy cercanos entre si, esto se debe a que la curva de calibración tiene una pendiente muy cercana a cero, por lo tanto no es posible diferenciar valores muy cercanos entre sí a bajas concentraciones.

$$\text{LOD} = X_b + 3\delta_{\text{Blanco}} \quad (4)$$

$$\text{LOQ} = X_b + 10\delta_{\text{Blanco}} \quad (5)$$

Donde:

X_b : es el punto de corte de la curva de calibración.

δ_{Blanco} : Es la desviación estándar de las intensidades del blanco. Se obtiene midiendo 10 veces esta solución.

Tabla 18. Resultados de los límites de detección y cuantificación

Analito	Técnica	LOD	LOQ
Hg	CV-AAS	0,32 µg Hg/L	0,60 µg Hg/L
Hg	CV-AFS	0,04 µg Hg/L	0,18 µg Hg/L
creatinina	Espectroscopia de absorción molecular	0,26 mg creat/L	0,30 mg creat/L

V.1.2 Validación del método de determinación de Hg por CV-AFS y de creatinina por espectroscopia de absorción molecular

Para la validación de los métodos de determinación de Hg y creatinina se usó un material certificado de orina liofilizada de laboratorios SERONORM™ (Trace elements urine), REF 201205 y lote #0511545, la cual fue reconstituida según las instrucciones dadas por el proveedor. Los valores promedios obtenidos a partir de 5 repeticiones para ambos métodos son reportados en la tabla 19; al aplicar la prueba t de student⁴⁴, a un nivel de significancia de $\alpha=0,05$, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la media del valor de la concentración de Hg y creatinina encontrados y los reportados por el estándar certificado a un 95% de confianza, es por ello que podemos decir que el método aplicado es confiable para la determinación de Hg y creatinina en orina.

Tabla 19. Resultados de la concentración de Hg y de creatinina en orina del material certificado SERONORM™ (Trace elements urine), REF 201205 y lote #0511545

Analito	Técnica	Rango Reportado	Valor Obtenido
Hg	CV-AFS	36,1- 45,3 µg Hg/L	(37±1) µg Hg/L
creatinina	Espectroscopia de	83,5-112,3	(98,6±0,3) mg

	absorción molecular	mg creat/L	creat/L
--	---------------------	------------	---------

V.2 Descripción de la población muestreada

Para facilitar el establecimiento de comparaciones que pueden llegar a ser importantes, entre determinados factores y los niveles de Hg encontrado para todos los niños muestreados, los datos fueron distribuidos en grupos de acuerdo a los datos recopilados por la encuesta epidemiológica y la forma mas ilustrativa de presentarlos es en forma de gráficos.

V.2.1 Aspectos generales

El universo de los infantes muestreados constó de un total de 78 individuos (N=78). Es posible afirmar que los niños no pasan mas de 6 horas en su colegio (horario establecido) y se descartó como posibles fuentes de exposición al Hg el consumo de pescado debido a que la población no es alta consumidora de pescado (2 o 3 veces al mes) y las amalgamas dentales ya que los niños no tenían reparaciones bucales (información extraída de la encuesta realizada).

V.2.2 Concentración de mercurio urinario en la población estudiada

Los niños fueron agrupados respecto a las instituciones a las cuales estudiaban, para presentar los resultados de los análisis de las muestras de orina. El primer colegio a analizar es el José Agosto Méndez, en la tabla 20 se presenta el promedio de dos determinaciones con su respectiva desviación de la concentración de Hg (en $\mu\text{g Hg/L}$ y en $\mu\text{g Hg/g creat}$) y la concentración de creatinina (g creat/L) en orina para cada muestra y en la figura 21 se presenta la distribución de los valores ordenados en forma

creciente. Sí tomamos como valor referencial $5 \mu\text{g Hg/g creat}$, que generalmente se toma como límites para personas adultas no expuestas⁹, podemos observar en la tabla 20 que el 50% de los valores se encuentran por encima de los valores referenciales, esto tal vez se deba a que este colegio se encuentra muy cercano a la plaza central del pueblo (figura 17) en donde hay muchas joyerías y talleres, en los cuales se realiza el calentamiento del oro con sopletes, al ocurrir esto, es posible que el Hg^0 presente en el oro sea emitido al ambiente.

Tabla 20. Valores de excreción de Hg y creatinina en las muestras de los niños de la institución José Agosto Méndez

Código Muestra	$\mu\text{g Hg/L} \pm \text{ds}$	$\text{g creat/L} \pm \text{ds}$	$\mu\text{g Hg/g creat} \pm \text{ds}$
U-031	3,4 $\pm$ 0,1	1,282 $\pm$ 0,001	2,67 $\pm$ 0,04
U-032	6 $\pm$ 1	1,51 $\pm$ 0,01	4 $\pm$ 1
U-033	73 $\pm$ 3	1,58 $\pm$ 0,02	46 $\pm$ 3
U-034	49 $\pm$ 3	0,542 $\pm$ 0,003	91 $\pm$ 3
U-035	25 $\pm$ 3	1,635 $\pm$ 0,001	15,2 $\pm$ 0,1
U-036	1,2 $\pm$ 0,6	0,82 $\pm$ 0,01	1,4 $\pm$ 0,6
U-037	22 $\pm$ 1	0,765 $\pm$ 0,001	28,31 $\pm$ 0,03
U-038	1,74 $\pm$ 0,05	0,893 $\pm$ 0,001	1,95 $\pm$ 0,03
Promedio$\pm$desviación	22,7 $\pm$ 9,2	1,3 $\pm$ 0,4	23,8 $\pm$ 31,4
Mediana	14,0	1,1	9,6
Rango	1,2-73	0,5-1,6	1,4-91

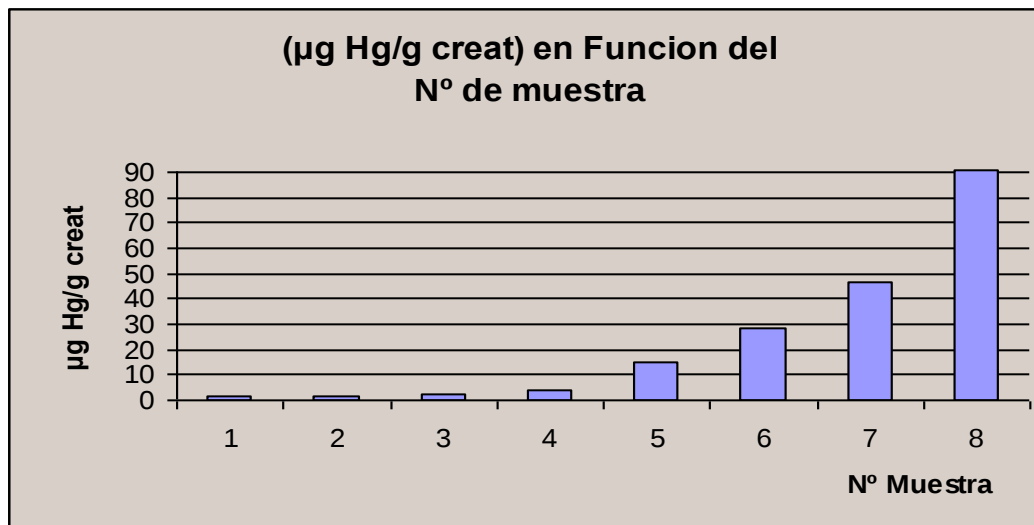


Figura 21. Valores individuales de excreción de Hg por gramo de creatinina en orina de 24 horas en las muestras de los niños del José Agosto Méndez. Dispuestos en forma creciente.

El segundo colegio a estudiar es el Dr. Alfredo Machado, en la tabla 21 se presentan los valores individuales de Hg (en $\mu\text{g Hg/L}$ y en $\mu\text{g Hg/g creat}$) y la creatinina en (g creat/L) para cada muestra y en la figura 22 se presenta una representación gráfica de los resultados de Hg por gramo de creatinina para cada muestra ordenadas de forma creciente, aquí podemos ver que el 54% de los niños muestreados de esta institución se encuentra por encima de los límites referenciales ($N = 14$ de sujetos de un total de 26 individuos) este colegio presenta una mediana de niveles de mercurio muy cercana a los límites referenciales (mediana = $4,4 \mu\text{g Hg/g creat}$), esta escuela es la segunda por su cercanía a la plaza central de El Callao, los resultados obtenidos concuerdan con la distancia que existe entre instituciones educativas a la plaza, lo cual sugiere que las joyerías de la misma pueden ser uno de los centros de emisión del mercurio.

Tabla 21. Valores de excreción de Hg y creatinina en las muestras de los niños de la institución Dr. Alfredo Machado

Código Muestra	µg Hg/L ± ds	g creat/L ± ds	µg Hg/g creat ± ds
U-001	<0,2	0,442±0,001	0,450±0,003
U-002	<0,2	0,733±0,003	0,300±0,003
U-003	7,4±1,5	0,70±0,02	10,6±2,1
U-004	12±4	0,87±0,06	14,4±4,3
U-005	3,7±0,3	1,2±0,06	3,0±0,2
U-006	4,5±0,1	0,22±0,01	20,6±0,5
U-007	17,0±0,5	1,243±0,006	13,7±0,4
U-008	<0,2	0,66±0,02	0,30±0,06
U-009	3,5±0,2	0,562±0,002	6,2±0,4
U-010	59±3	0,85±0,02	69±1
U-011	1,6±0,8	1,124±0,001	1,4±0,8
U-012	18±1	2,122±0,004	8,4±0,5
U-013	0,62±0,03	0,91±0,01	0,68±0,02
U-014	0,93±0,05	2,91±0,01	0,32±0,02
U-015	1,18±0,04	0,742±0,002	1,6±0,1
U-016	12,9±0,2	0,67±0,01	19,3±0,4
U-017	1,74±0,04	0,219±0,002	8,0±0,2
U-018	9,45±0,01	0,353±0,001	26,78±0,05
U-019	1,8±0,1	0,398±0,001	4,5±0,3
U-020	8,0±0,1	1,814±0,001	4,4±0,3
U-021	1,5±0,2	0,18±0,01	8±1
U-022	0,8±0,3	0,198±0,001	0,7±0,2
U-023	2,32±0,01	0,562±0,004	0,562±0,001
U-024	0,49±0,05	0,079±0,001	6,2±0,1
U-025	1,5±0,1	0,610±0,001	2,5±0,2
U-026	1,08±0,04	1,33±0,02	0,81±0,03
Promedio±desviación	7,4±12,4	0,8±0,6	9,0±14,2
Mediana	2,3	0,7	4,4
Rango	3,3-59,0	0,6-2,9	3,3-69,0

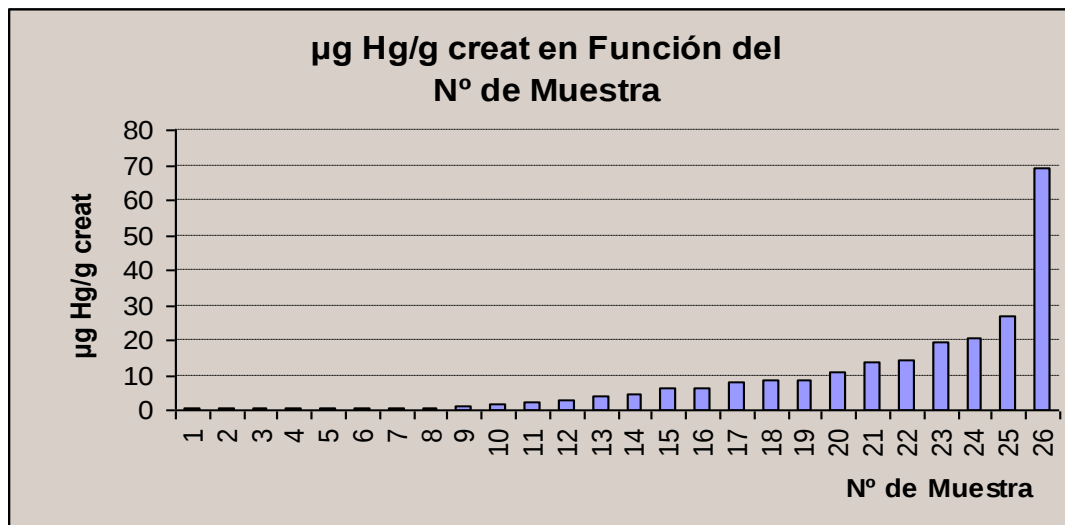


Figura 22. Valores individuales de excreción de Hg por g de creatinina en orina de 24 horas en las muestras de los niños de la institución Dr. Alfredo Machado. Dispuestos en forma creciente.

El tercer colegio es la Unidad Educativa Nicolás Antonio Farreras, en el cual el numero de niños estudiados fue de 40, los alumnos estudiados de esta institución fueron los que presentaron los niveles mas bajos de Hg por gramos de creatinina (mediana = 0,73 µg Hg/g creat). Por otro lado, en la tabla 22 se exponen los valores individuales de Hg (en µg Hg/L y en µg Hg/g creat) y la creatinina en (g creat/L) para cada muestra y en el figura 23 se observa la distribución de todas las muestras de los niños que pertenecen a esta unidad educativa, se puede destacar que 32 niños están por debajo de los limites permisibles (83% de la población general). Nuevamente estos resultados concuerdan entre la distancia de los colegios y la plaza central.

Tabla 22. Valores individuales de excreción de Hg y creatinina en las muestras de los niños de la institución Nicolás Antonio Farreras

Código Muestra	µg Hg/L ± ds	g creat/L ± ds	µg Hg/g creat ± ds
----------------	--------------	----------------	--------------------

U-039	3,8±0,5	0,435±0,002	8,62±0,14
U-040	2,0±0,1	0,9±0,1	2,11±0,03
U-041	1,92±0,8	1,033±0,007	1,860,39
U-042	2,47±0,13	1,105±0,001	2,23±0,05
U-043	1,6±0,1	1,036±0,001	1,55±0,03
U-044	5,4±0,3	1,106±0,003	4,9±0,1
U-045	<0,2	0,567±0,002	0,40
U-046	1,3±0,1	1,302±0,001	1,0±0,1
U-047	6,5±0,1	1,06±0,06	6,09±0,01
U-048	1,0±0,1	0,376±0,002	2,6±0,1
U-049	0,40±0,05	1,568±0,0326	0,25±0,128
U-050	9±1	1,896±0,005	4,6±0,1
U-051	<0,2	0,986±0,001	0,20
U-052	3,6±0,1	2,411±0,004	1,50±0,03
U-053	6±1	1,521±0,004	4,0±0,1
U-054	<0,2	1,547±0,003	0,14
U-055	0,220±0,002	0,551±0,005	0,40±0,01
U-056	<0,2	1,016±0,003	0,2
U-057	2,0±0,2	0,831±0,003	2,4±0,1
U-058	<0,2	0,971±0,002	0,21
U-059	<0,2	0,843±0,002	0,24
U-060	1,6±0,3	1,226±0,002	1,3±0,2
U-061	1,9±0,1	1,204±0,001	1,6±0,1
U-062	4,39±0,01	0,730±0,001	6,01±0,02
U-063	0,16±0,01	1,889±0,003	0,08±0,03
U-064	<0,2	0,805±0,001	0,25
U-065	5,7±0,1	0,472±0,002	11,98±0,02
U-066	21±1	1,376±0,001	15,0±0,1
U-067	<0,2	1,595±0,003	0,13
U-068	<0,2	0,274±0,002	0,73
U-069	0,36±0,02	0,599±0,003	0,60±0,05
U-070	<0,2	1,960±0,003	0,10
U-071	<0,2	0,527±0,003	0,4
U-072	<0,2	0,590±0,003	0,3
U-073	<0,2	1,972±0,003	0,1
U-074	0,4±0,1	1,620±0,003	0,2±0,1
U-075	0,4±0,1	0,999±0,001	0,4±0,3
U-076	<0,2	0,692±0,003	0,29
U-077	8±1	0,606±0,001	12,5±0,1
U-078	0,38±0,1	1,620±0,001	0,24±0,05
Promedio±desviación	2,8±0,5	1,1±0,5	2,4±3,7

Mediana	2,0	1,0	0,7
Rango	0,16-2,6	0,3-2,4	0,1-15,0

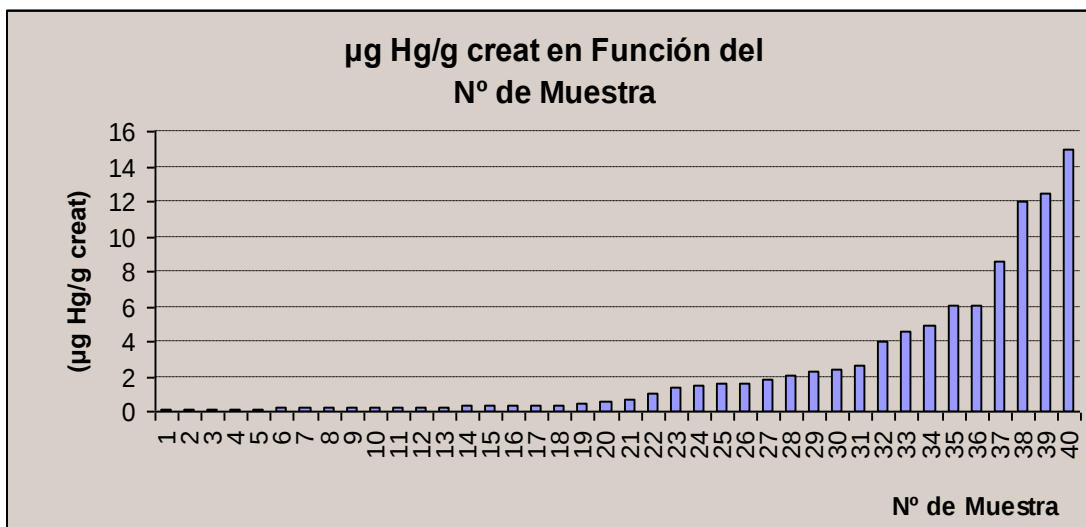


Figura 23. Valores individuales de excreción de Hg por g de creatinina en orina de 24 horas en las muestras de los niños del colegio Dr. Nicolás Antonio Farreras. Dispuestos en forma creciente.

El ultimo de los colegios estudiados y el más lejano a la plaza central de El Callao es la institución Barrio Obrero, este colegio se encuentra en la entrada del pueblo en una zona alejada de cualquier tipo de actividad minera, en este caso las muestras estudiadas fueron muy pocas en comparación a los otros colegios, los valores de Hg indican que de todos los niños estudiados pertenecientes a esta institución sólo dos de ellos exceden los limites referenciales ($<5 \mu\text{g Hg/g creat}$), aunque la mediana indica que se encuentran por debajo de dichos limites (mediana = $3,885 \mu\text{g Hg/g creat}$) esto se ilustra en la figura 24, mientras en la tabla 23 se exponen los valores individuales de Hg (en $\mu\text{g Hg/L}$ y en $\mu\text{g Hg/g creat}$) y la creatinina en (g creat/L) para cada muestra.

Tabla 23. Valores individuales de excreción de Hg y creatinina en las muestras de los niños de la institución Barrio Obrero

Código Muestra	$\mu\text{g Hg/L} \pm \text{ds}$	$\text{g creat/L} \pm \text{ds}$	$\mu\text{g Hg/g creat} \pm \text{ds}$
U-027	$1,0 \pm 0,2$	$2,6 \pm 0,1$	$0,4 \pm 0,2$
U-028	69 ± 1	$0,756 \pm 0,003$	91 ± 1
U-029	10 ± 1	$0,960 \pm 0,003$	$1,1 \pm 0,3$
U-030	7 ± 1	$0,976 \pm 0,001$	$7,4 \pm 0,1$
Promedio $\pm$ desviación	$21,8 \pm 15,9$	$1,3 \pm 0,4$	$25,0 \pm 22,1$
Mediana	8,5	1,0	4,2
Rango	1,0-69,0	0,8-2,6	0,4-91,0

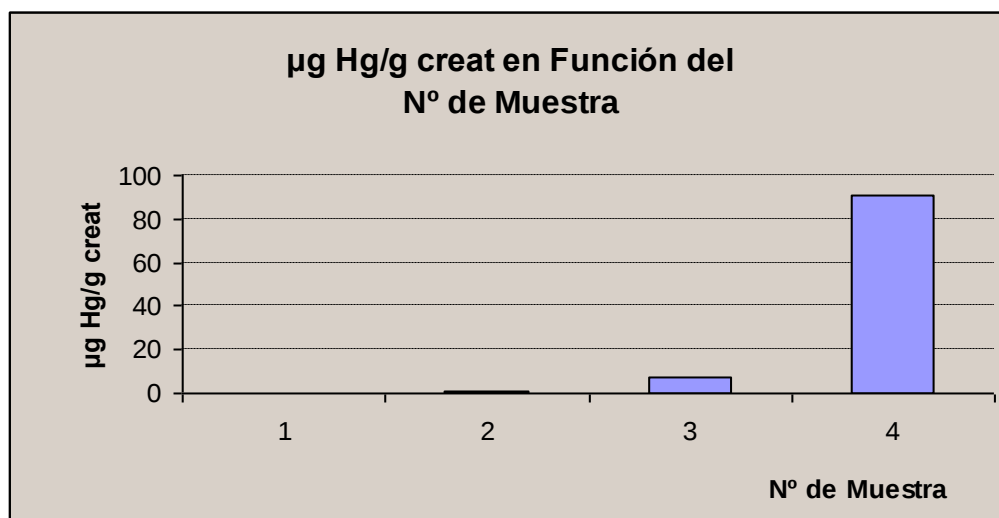


Figura 24. Valores individuales de excreción de Hg por g de creatinina en orina de 24 horas en las muestras de los niños de la institución Barrio Obrero. Dispuestos en forma creciente.

El resumen del número de niños muestreados por colegio, los valores de mediana y el rango de concentraciones de Hg por gramo de creatinina de las muestras analizadas son mostrados en la tabla 24 donde se evidencia la distribución de todos los resultados por colegio, mientras que en la figura 25 se presenta el diagrama de caja y bigotes en el cual se puede observar al valor del promedio de concentración de Hg representado por una cruz de color rojo y el valor de la mediana representado por una línea horizontal.

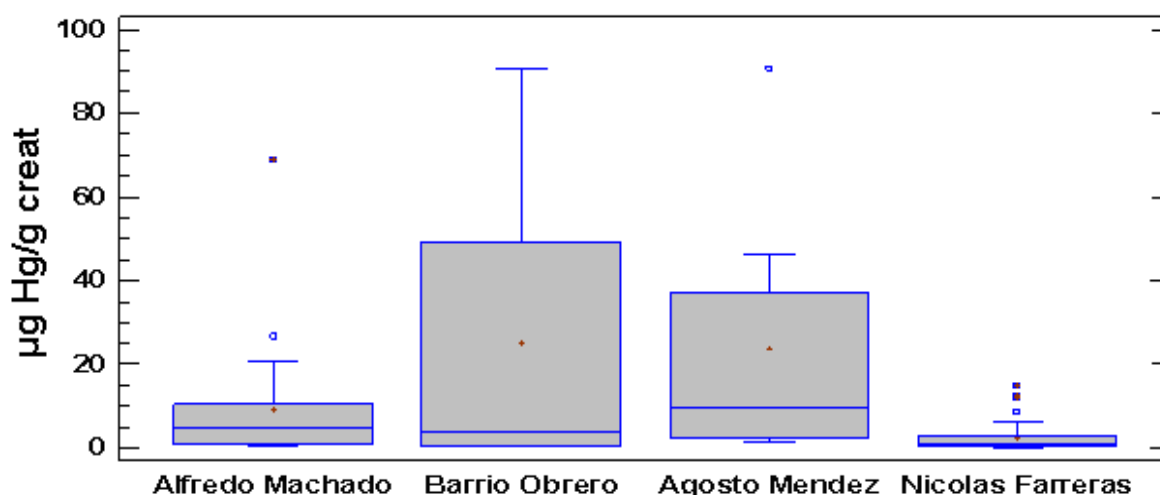


Figura 25. Representación gráfica de los valores de mercurio en las muestras de orina de 24 horas de los niños muestreados distribuidos según la institución a los que pertenecen.

Tabla 24. Número de niños muestreados, valores de mediana y rango de valores respecto a la institución a la cual pertenecen

Colegio	Nº de niños	Mediana (µg Hg/g creat)	Rango (µg Hg/g creat)
Alfredo Machado	26	4,4	0,30-68,98

Barrio Obrero	4	4,2	0,36-90,80
Agosto Méndez	8	9,6	1,42-90,69
Nicolás Farreras	40	0,7	0,08-14,98

V.3 Niveles de Hg en la población estudiada

Los valores de la mediana, el promedio y la desviación estándar son mostrados en la tabla 25 y la distribución de todos los valores de las concentraciones de Hg por gramo de creatinina de las muestras en figura la 26, en esta se representa con una línea de color rojo el limite referencial según la legislación oficial del país ($<5 \mu\text{g Hg/g creat}$). El análisis mediante el uso de la prueba ANOVA demostró que el valor de la mediana y el valor del promedio de la concentración de Hg no son estadísticamente iguales (al 95 % de confianza), por lo tanto no existe una distribución normal de los valores, en vista de ello se utilizó el valor de la mediana de concentración de Hg ya que es un parámetro mas ajustado al valor real para este tipo de estudio de poblacional. El valor obtenido de la mediana y la desviación estándar para la concentración de Hg por gramo de creatinina en orina de 24 horas para los niños muestreados fue de $(1,86 \pm 16,66) \mu\text{g Hg/g creat}$, este valor de mediana está por debajo de los limites referenciales impuestos por la legislación oficial de la republica⁹.

Tabla 25. Valores generales de los niveles de mercurio en las muestras de orina de 24 horas de los niños muestreados

Nº Muestra	Promedio ($\mu\text{g Hg/g creat}$)	Mediana ($\mu\text{g Hg/g creat}$)	Desviación estándar ($\mu\text{g Hg/g creat}$)	Rango ($\mu\text{g Hg/g creat}$)
79	8,21	1,86	16,66	0,08-90,80

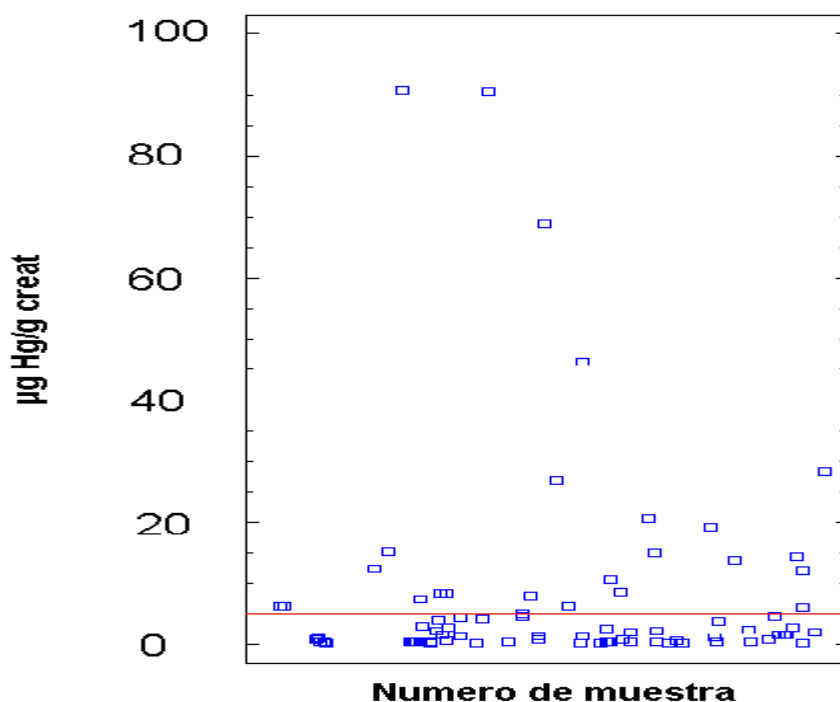


Figura 26. Representación gráfica de los valores de concentración de mercurio en las muestras de orina de 24 horas de los niños muestreados.

De la población estudiada podemos destacar que el 69% de los infantes se encuentran por debajo de los límites referenciales (54 niños), mientras que un 31% de niños sobrepasan dichos valores referenciales (24 niños), entre los cuales sobresalen dos niños que alcanzan los valores de 90 µg Hg/g creat, dichos valores según la OMS ya son indicativos de efectos sobre la salud tales como daños a los riñones y síntomas asociados con el mercurialismo²⁹. La mediana obtenida en este trabajo (1,86 µg Hg/g creat) fue comparada con la conseguida por Agreda y col¹⁷ en su trabajo (1,22 µg Hg/g creat); según la prueba de Kruskal-Wallis no hay diferencias significativas entre ambas medianas ($p < 0,05$ al 95% de confianza), lo cual podemos indicar que los valores obtenidos de mercurio por gramo de creatinina en orina para los niños estudiados son

estadísticamente iguales a los reportados en el municipio San Diego en el Estado Carabobo.

V.4 Relación de los niveles de Hg con diversos parámetros

Separando los datos por categorías tomamos los valores correspondientes al sexo de los niños estos se muestran en la tabla 26, se nota que esta distribución es pareja en cuanto a estos dos términos debido al tipo de selección de la población realizada, los resultados encontrados en estos mismos grupos se muestran en la figura 27. No se encontraron diferencias significativas entre las medianas de ambos sexo por las pruebas de Kruskal-Wallis y la prueba de Mood ($p \geq 0,05$ al 95% de confianza), con lo que podemos decir que la cantidad de Hg excretado por los individuos no depende del sexo, esta tendencia también fue reportada por Woods y col³¹. Ellos adicionalmente reportan en su trabajo que las hembras presentan valores mayores de Hg excretado por gramo de creatinina que los varones, esto se puede atribuir a varias causas, como hábitos alimenticios, ejercicios que resultan en una alta velocidad de respiración y peso corporal.

Tabla 26. Número de niños muestreados, valores de mediana y rango de valores respecto a su sexo

Sexo	Nº de Niños	Mediana ($\mu\text{g Hg/g creat}$)	Rango ($\mu\text{g Hg/g creat}$)
Femenino	40	2,44	0,08-46,26
Masculino	39	1,73	0,10-90,80

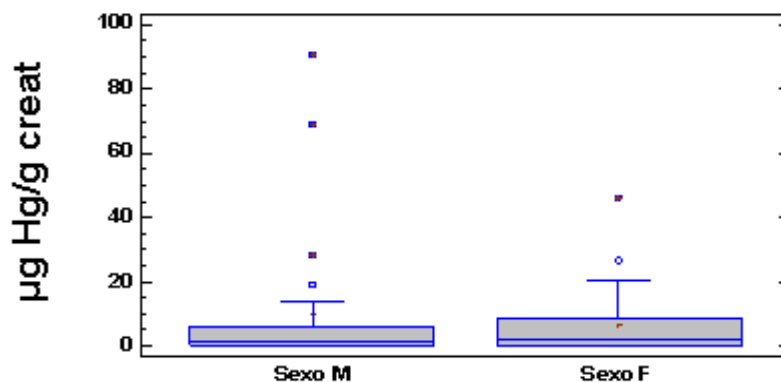


Figura 27. Representación gráfica de los valores de mercurio en las muestras de orina de 24 horas de los niños muestreados, distribuidos según su sexo.

Agrupando ahora a los niños muestreados por edades se encontró (tabla 27 y figura 28) que los valores de las medianas obtenidos están por debajo de los valores límites establecidos por la legislación de Venezuela y la OMS^{1,9} (5 µg Hg/g creat). Como se puede observar no existe un patrón claro de crecimiento o decrecimiento de los valores de mercurio excretados en función de la edad, por lo cual se puede indicar que este no es un parámetro que explique los resultados obtenidos. Al realizarse pruebas estadísticas (tests de Kruskal-Wallis y test de Mood) no se encontraron diferencias significativas entre las medias de las concentraciones de Hg por gramo de creatinina entre cada una de las edades de los niños ($p \geq 0,05$ al 95% de confianza). También estas tendencias fueron similares a las obtenidas por Wood y por Levy, los cuales tampoco encontraron relación entre sus resultados y la edad de los niños en estudio⁷ y

Tabla 27. Número de niños muestreados, valores de mediana y rango de valores respecto a su edad

Edad	Nº de niños	Mediana ($\mu\text{g Hg/g creat}$)	Rango ($\mu\text{g Hg/g creat}$)
5	3	0,45	0,30-2,47
6	10	3,425	0,20-10,60
7	12	1,295	0,20-68,98
8	11	2,65	0,14-90,80
9	9	3,03	0,08-11,98
10	13	2,95	0,13-19,28
11	6	0,32	0,10-14,98
12	10	1,01	0,25-90,69
13	5	2,67	2,67-46,26

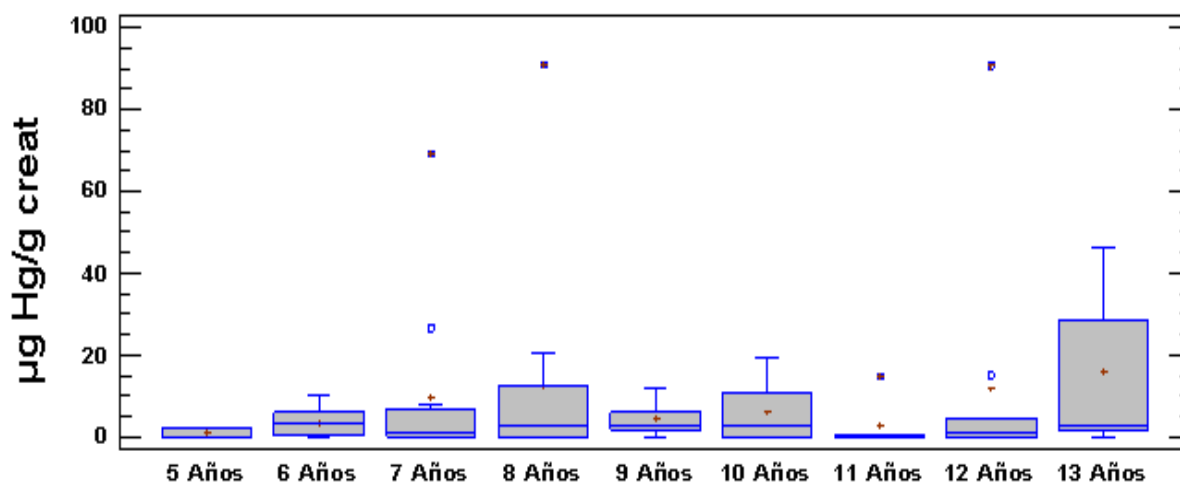


Figura 28. Representación gráfica de los valores de mercurio en las muestras de orina de 24 horas de los niños muestreados distribuidos según su edad.

V.5 Fuentes de exposición

Las fuentes de exposición de mercurio en el caso de El Callao (y en general en todas las zonas mineras) son producidas por las actividades que tienen que ver con la manipulación del Hg sin medir las consecuencias de los riesgos que conlleva una exposición prolongada. Nuevamente con el uso de la encuesta epidemiológica se agruparon los datos en grupos de posibles fuentes de contaminación. El primer parámetro a considerar fue el tiempo de residencia en la zona. A continuación se muestran en la tabla 28 los resultados de las distribuciones de los niños en función a si nacieron (o no) en El Callao, mientras que en la figura 29 los resultados obtenidos para las medianas de los niveles de U-Hg por gramos de creatinina para los dos conjuntos. Nuevamente el valor de las medianas de las concentraciones de Hg en las muestras de los niños no exceden los límites establecidos para personal no expuesto independientemente del grupo que se observe. Al realizar la prueba de Kruskal-Wallis y el test de Mood se evidenció que no existen diferencias significativas entre ambas medianas ($p \geq 0,05$ al 95% de confianza), por lo cual se puede afirmar que no existe relación alguna entre los niveles de Hg en los niños y el tiempo de residencia en El Callao.

Tabla 28. Número de niños muestreados, valores de mediana y rango de valores respecto al factor de nacimiento en El Callao

Parámetro (Nació en El Callao)	Nº de niños	Mediana ($\mu\text{g Hg/g creat}$)	Rango ($\mu\text{g Hg/g creat}$)
Si	45	4,47	0,08-90,80
No	23	3,89	0,10-28,31

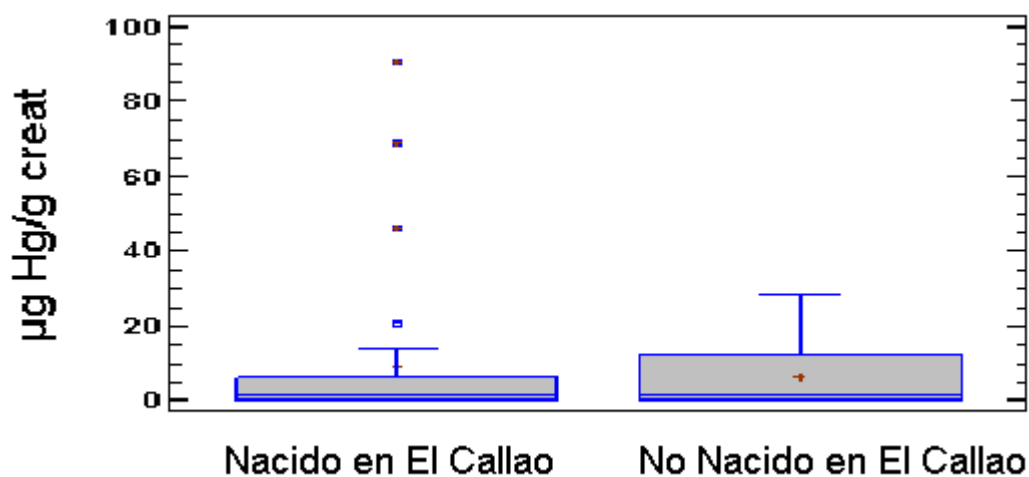


Figura 29. Representación gráfica de los valores de mercurio en las muestras de orina de 24 horas de los niños muestreados distribuidos según su factor de nacimiento.

La distancia de ubicación de la vivienda con posibles fuentes de emisión de Hg es importante, ya que el grado de exposición depende del radio de difusión del Hg elemental el cual es menor con la distancia. La distancia entre la habitación de los niños y estas posibles fuentes fueron establecidas en la encuesta epidemiológica, colocando como medida las cuadras que son aproximadamente 100 metros. Los datos agrupados en estos conjuntos son mostrados en la tabla 29 se demuestran los resultados de las medianas de los niños según la distancia a los puntos de emisión, donde podemos destacar que la tendencia principal de todos los grupos es de un decrecimiento notable a medida que aumenta la distancia entre estas fuentes de emisión y la habitación de vivienda (figuras 30, 31, 32 y 33), de todos estos grupos el que resultó de un valor de mediana mayor (mediana = $27,44 \mu\text{g Hg/g creat}$) es el

correspondiente a la distancia de 1 a 2 cuadras entre la vivienda de habitación y los talleres en donde se realiza la quema del oro para su venta (figura 31), esta práctica es constante, ya que está es la principal actividad económica de la región, esta puede ser una posible fuente de incidencia sobre los valores de Hg elevados y por lo tanto puede afectar a una población que no se dedica a esta actividad, mientras en las figuras 32 se muestra que existe una relación entre los niveles de Hg obtenidos y la distancia a los molinos, una relación similar fue encontrada por Sequera en su trabajo⁴⁷, lo cual nos indica que los molinos pueden ser una razón de los niveles de U-Hg encontrados.

Tabla 29. Número de niños muestreados, valores de mediana y rango de valores respecto a la distancia de la casa de habitación y las posibles fuentes de emisión de Hg

Fuente de emisión (Distancia en cuadras)	Nº de niños	Mediana (µg Hg/g creat)	Rango (µg Hg/g creat)
Molino (1-2)	7	2,20	0,10-3,81
Molino (3-4)	4	2,17	0,36-7,41
Molino (>4)	18	1,075	0,10-90,80
Mina (1-2)	26	3,24	0,10-26,78
Mina (3-4)	5	2,65	0,10-7,41
Mina (>4)	20	1,6	0,13-90,80
Taller (1-2)	7	27,44	0,14-90,80
Taller (3-4)	1	4,87	----
Taller (>4)	15	0,4	0,10-15,24
Fundición (1-2)	10	1,95	0,20-90,69
Fundición (3-4)	3	0,67	0,14-3,98
Fundición (>4)	14	0,38	0,10-90-80

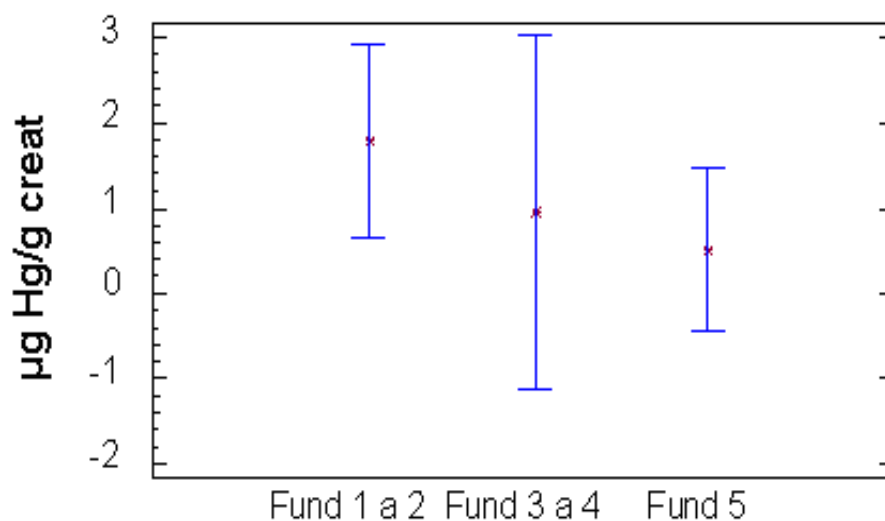


Figura 30. Representación gráfica de las medianas de los valores de mercurio en las muestras de orina de 24 horas de los niños muestreados distribuidos según la distancia (en cuadras) entre la vivienda y las fundiciones de amalgamas.

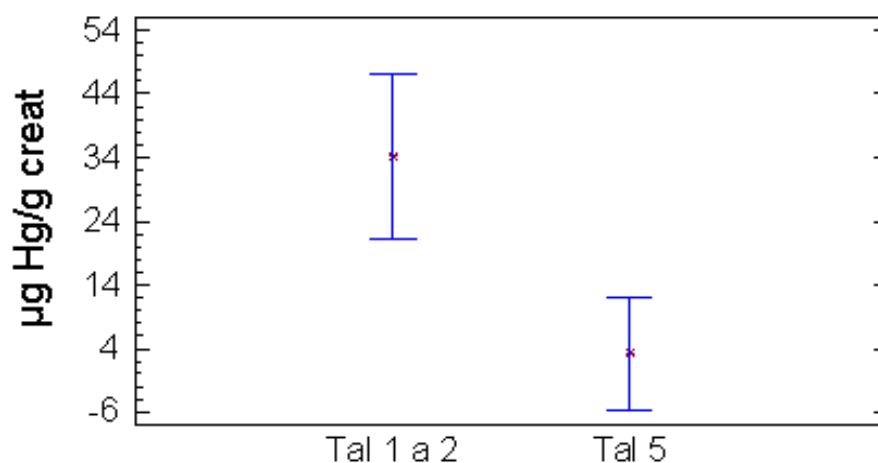


Figura 31. Representación gráfica de las medianas de los valores de mercurio en las muestras de orina de 24 horas de los niños muestreados distribuidos según la distancia (en cuadras) entre la vivienda y los talleres de las joyerías.

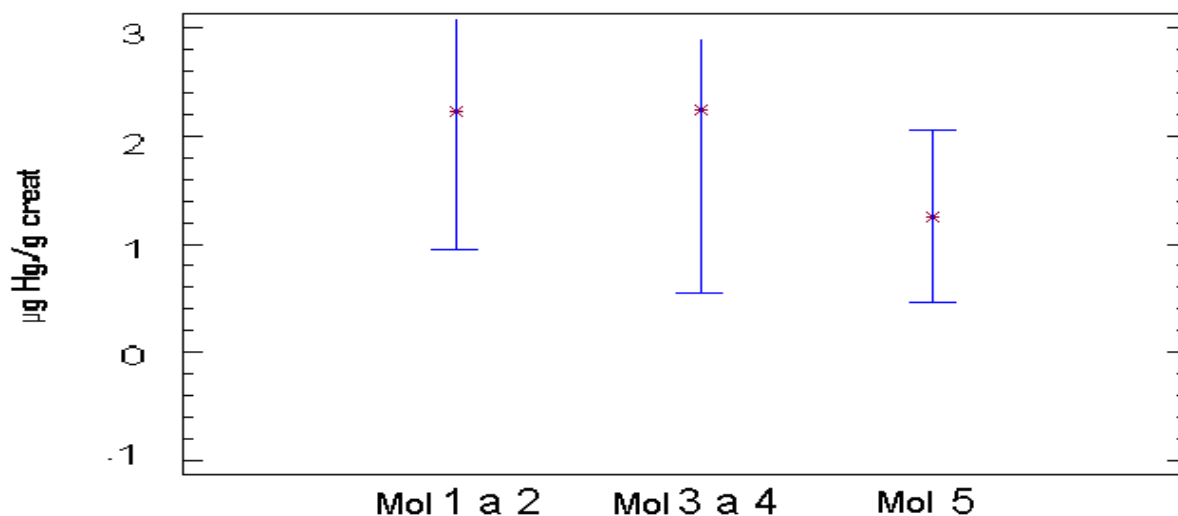


Figura 32. Representación gráfica de las medianas de los valores de mercurio en las muestras de orina de 24 horas de los niños muestreados distribuidos según la distancia (en cuadras) entre la vivienda y los molinos.

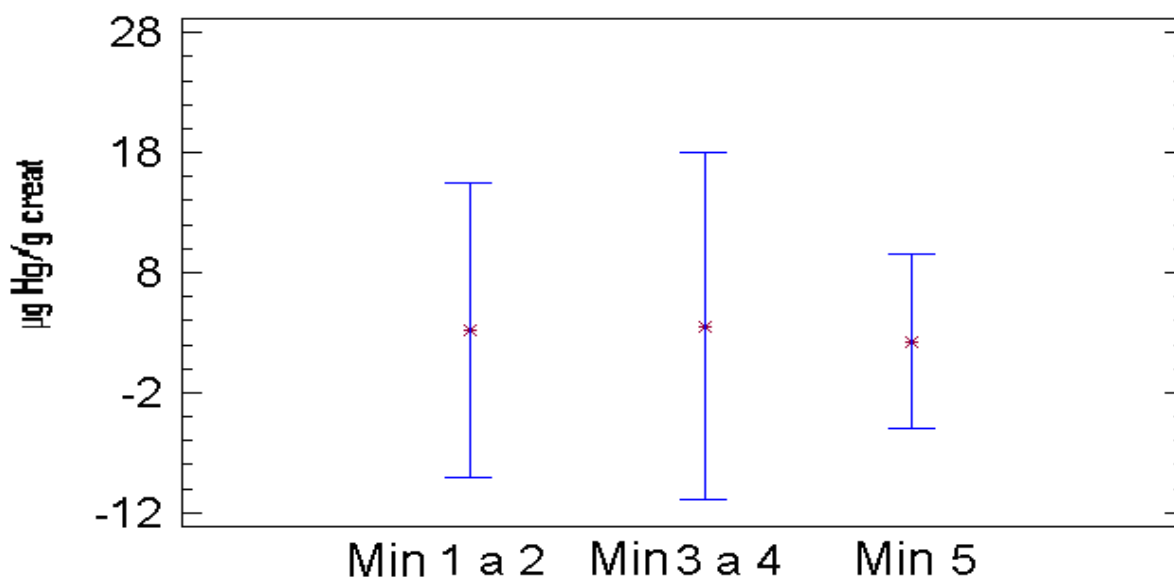


Figura 33. Representación gráfica de las medianas de los valores de mercurio en las muestras de orina de 24 horas de los niños muestreados distribuidos según la distancia (en cuadras) entre la vivienda y las minas.

Esta parte del estudio se centra en evaluar la incidencia que tienen las profesiones de los padres sobre los miembros de su familia, por ello de las diferentes profesiones a las que se dedicaban los padres se escogieron tres principalmente (molineros, mineros y joyeros). A modo de comparación se colocaron los números de niños que presentan padres con dichas profesiones en la tabla 30 donde se evidencia que existe un número mayor de niños que tienen padres mineros respecto a los niños que tienen padres molineros y/o joyeros, y se puede observar que los niños de padres mineros resultaron tener valores menores de mercurio por gramo de creatinina (mediana = 3,81 $\mu\text{g Hg/g creat}$) con respecto a los que tienen padres molineros (mediana = 21,78 $\mu\text{g Hg/g creat}$) y estos a su vez tienen valores menores respecto a los niños con padres joyeros (mediana = 46,40 $\mu\text{g Hg/g creat}$), estos dos últimos poseen valores por encima de los niveles referenciales, y por consiguiente se puede decir que los valores de mercurio en los niños pueden estar relacionados directamente con la profesión del padre.

Tabla 30. Número de niños muestreados, valores de mediana y rango de valores respecto a la profesión de padre

Profesión del Padre	Nº de niños	Mediana ($\mu\text{g Hg/g creat}$)	Rango ($\mu\text{g Hg/g creat}$)
Molinero	4	21,78	0,08-90,80
Minero	25	2,67	0,10-28,31
Joyero	2	46,4	2,11-90,69

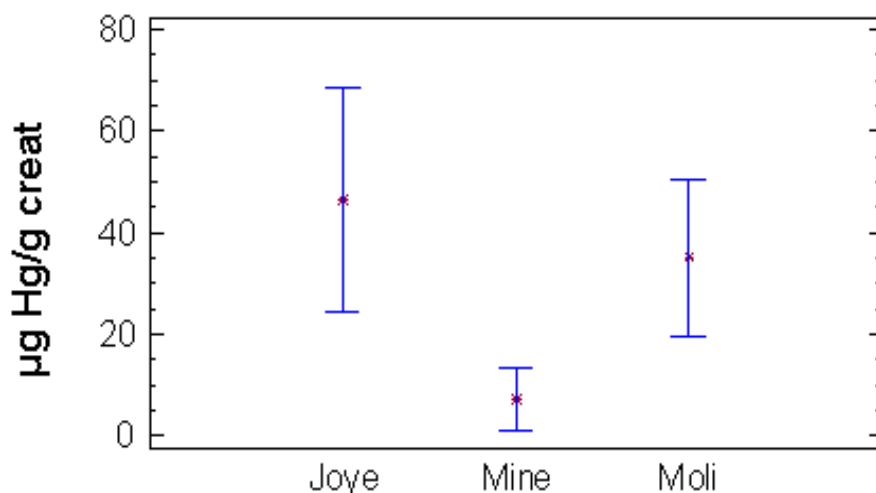


Figura 34. Representación gráfica de las medianas de los valores de mercurio en las muestras de orina de 24 horas de los niños muestreados distribuidos en función de las profesiones de sus padres.

Si bien es cierto que la profesión de los padres puede tener una incidencia sobre las concentraciones de mercurio en los miembros de su familia es importante también considerar las actividades que los padres realizan en sus hogares como es la quema de las amalgamas, lo cual, produce que los niveles de Hg elemental en el ambiente del hogar lleguen a ser muy elevados exponiendo así a todos los miembros de su familia, sobre todo porque esto se realiza en espacios cerrados o con poca ventilación como baños, cocinas, habitaciones etc. Por otro lado, el riesgo aumenta si los niños están presentes en los sitios donde se produce el amalgamamiento de los minerales extraídos, como son cerca de los molinos, En la tabla 31 y en la figura 35, se presenta la información concerniente a estas situaciones.

Tabla 31. Número de niños muestreados, valores de mediana y rango de valores respecto a las diferentes tipos de situaciones relacionadas con la minería artesanal

Situación	Nº de niños	Mediana ($\mu\text{g Hg/g creat}$)	Rango ($\mu\text{g Hg/g creat}$)
Quema amalgamas en la casa (si)	9	3,98	0,14-90,69
Quema amalgamas en la casa (no)	19	1,6	0,08-15,24
El niño visita los molinos (si)	11	8,62	0,14-90,69
El niño visita los molinos (no)	36	2,54	0,08-90,69

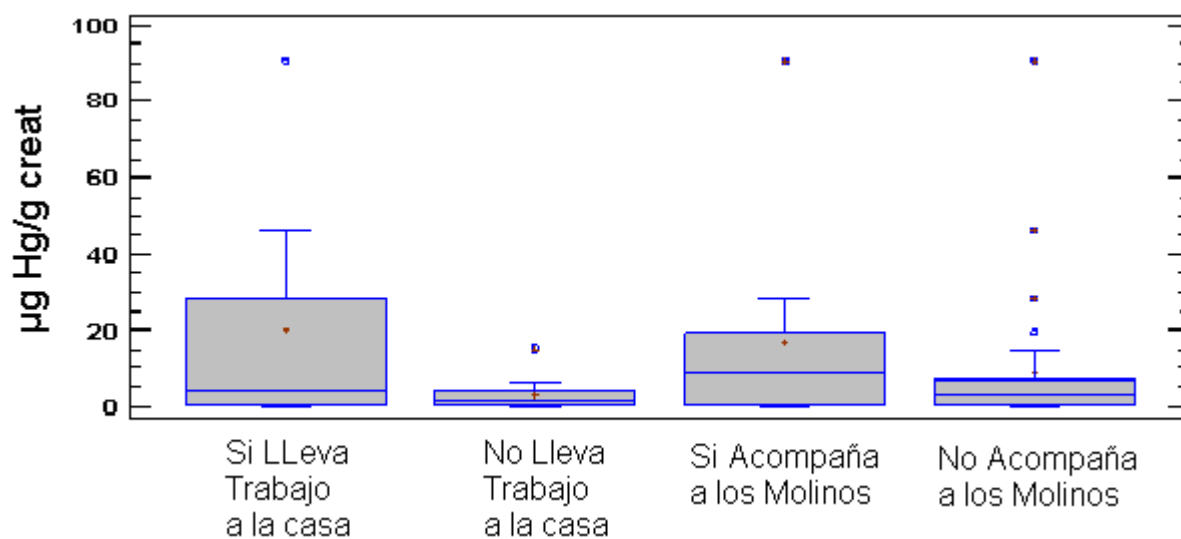


Figura 35. Representación gráfica de las medianas de los valores de mercurio en las muestras de orina de 24 horas de los niños muestreados distribuidos en función a las diferentes actividades tanto de los padres como de los niños.

En la tabla 31 y la figura 35, se evidencia que la presencia del factor de compañía de los niños a los molinos, tiene una importancia considerable, en ellas se puede observar que en los niños que no acompañan a sus padres a los lugares de exposición la mediana es de $2,6 \mu\text{g Hg/g creat}$, mientras que los que acompañan a sus padres presentan una mediana mas elevada de $8,6 \mu\text{g Hg/g creat}$, estos resultados indican que al aumentar el grado de exposición de los niños a las fuentes de emisión del mercurio incrementa a su vez los niveles de U-Hg. Igualmente, también se muestran los niños que tienen padres que practican la purificación del oro por quema de las amalgamas en su hogar, estos niños reportaron medianas de concentración de mercurio de $4,0 \mu\text{g Hg/g creat}$, mientras que los niños con padres que no realizan esta actividad su mediana fue de $1,6 \mu\text{g Hg/g creat}$, cabe destacar que estos valores no superan los valores referenciales($5 \mu\text{g Hg/g creat}$), sin embargo se observa un incremento en la mediana lo que nos indica que esto es una posible fuente de exposición. Estas tendencias fueron reseñadas por Hurtado, quien estudio los niveles del mercurio sobre los niños cuando los padres realizan las fundiciones en pequeñas casas sin ventilación suficiente. En este trabajo se destaca un niño de 7 años que presenta niveles de $466 \mu\text{g Hg/L}$ mientras que un niño que no tienen padres que practican esta actividad arrojó un valor de $9,15 \mu\text{g Hg/L}$ ¹¹. Esta conducta es también observada en otros países como Zimbawe, Perú, o en Brasil²⁸.

VI Conclusiones

- ✓ Los resultados del análisis del material certificado de orina mostraron que el método de digestión de las muestras es confiable, ya que no se encontraron diferencias significativas al 95% de confianza entre el valor obtenido y el valor reportado por el proveedor.
- ✓ El límite de detección para la técnica de CV-AFS fue menor que el de la técnica de CV-AAS (0,04 y 0,3 µg Hg/L respectivamente).
- ✓ El límite de detección y de cuantificación del método de determinación de creatinina en las muestras de orina de 24 horas (0,26 y 0,30 mg creat/L respectivamente) dieron similares producto de la poca sensibilidad a bajas concentraciones del espectrofotómetro de UV-Visible utilizado.
- ✓ El número de niños muestreados fue de 78 infantes lo cual representa alrededor del 5% de la población (al 3% de precisión) de niños escolarizados en edades comprendidas entre 5 y 13 años, pertenecientes a las 4 instituciones estudiadas.
- ✓ El análisis colegio por colegio arrojó que un 50% de niños (4 niños de 8 infantes muestreados) de la institución José Agosto Méndez, 54% de niños (14 niños de 26 infantes muestreados) de la institución Alfredo Machado, 17% de niños (8

niños de 40 infantes muestreados) de la institución Nicolás Farreras y 2 niños de 4 infantes muestreados de la institución Barrio Obrero exceden los límites referenciales de la gaceta oficial.

- ✓ Al correlacionar los valores de concentración de Hg de las muestras de orina analizadas con las instituciones en las cuales estudian los niños muestreados se encontró que hay diferencias significativas entre estos colegios, lo cual es producto de la distancia entre las instituciones y la plaza central del casco del El Callao, la cual es una posible fuente de emisión de Hg continua, debido a que en ella se encuentran muchos centros de joyería y trabajo con el oro.
- ✓ Se encontró que la distribución de todos los valores de concentración de Hg de la población estudiada no sigue una distribución normal, siendo la mediana el parámetro que representa los valores obtenidos de esa población.
- ✓ El valor de mediana de la concentración de Hg por gramo de creatinina y la desviación estándar fue de $(1,86 \pm 16,66)$ $\mu\text{g Hg/g creat}$, con un rango de $(0,08-90,80)$ $\mu\text{g Hg/g creat}$, este valor de mediana no supera los valores referenciales de la república bolivariana de Venezuela del año 1999 (5 $\mu\text{g Hg/g creat}$).
- ✓ De la población muestreada en general se encontró que 69% de los niños están por debajo de los límites referenciales, mientras que un 31% exceden estos valores.
- ✓ No se encontraron diferencias significativas al 95% de confianza entre la mediana de concentración de Hg por gramo de creatinina de los niños

muestreados (1,86 $\mu\text{g Hg/g creat}$) y la media de los niños de otras regiones de Venezuela (1,22 $\mu\text{g Hg/g creat}$).

- ✓ De los resultados de la encuesta se pudieron establecer algunos factores que pudieron ser relacionados con posibles fuentes de emisión y así relacionarlo con los valores obtenidos por las medidas de Hg de las muestras.
- ✓ No se encontraron diferencias significativas al 95% de confianza cuando se analizaron las variables de edad, sexo, factor de nacimiento.
- ✓ Al correlacionar las concentraciones de mercurio en orina de los niños muestreado con la distancia entre la vivienda de habitación y las posibles fuentes de emisión de Hg^0 (minas, molinos, fundiciones y talleres) se obtuvo que los niños que tienen niveles de Hg mas alto son los que viven cerca da las fundiciones y talleres.
- ✓ Al correlacionar las concentraciones de mercurio en orina de los niños muestreado con la distancia entre la vivienda de habitación y las posibles fuentes de emisión de Hg^0 (minas, molinos, fundiciones y talleres) se obtuvo existe una tendencia a disminución de dichos valores a medida que la distancia a estas fuentes aumenta.
- ✓ Al correlacionar las concentraciones de mercurio en orina de los niños con la profesión, ocupación u oficio de los padres se obtuvo que los niños que tienen los niveles mas altos de mercurio son los hijos de los joyeros, seguido por los molineros y por último los mineros.

- ✓ Al correlacionar las concentraciones de mercurio en orina de los niños con las actividades de quemar amalgamas en los hogares de habitación de los infantes se obtuvo que los niños que presentaban mayores niveles de Hg son aquellos cuyos padres practican estas actividades.
- ✓ Se encontró una existe una relación entre los valores de concentración obtenidos para los niños muestreados y la presencia de los niños en los molinos, siendo así que los niños que presentan niveles de Hg mas altos son aquellos que acompañan a sus padres a los molinos.

VII Recomendaciones

- ✓ Realizar un estudio a los joyeros, que trabajan en la plaza del pueblo, así como a los habitantes que viven cerca del mismo punto.
- ✓ Realizar análisis clínicos y exámenes neurológicos a los niños con altos niveles de mercurio en orina para comprobar si realmente se está afectando su salud.

VIII Referencias

[1] World Health Organization, United Nations Environment Programme (UNEP). "Guidance for Identifying Populations at Risk From Mercury Exposure". Geneva, Suiza 2008.

[2] Triunfante, P. Soares, M. Santos, A. Tavares, S. Carmo, H. Bastos, M. "Mercury Fatal Intoxication: Two Case Reports". Forensic Science International 184 (2009), (e1-e6).

[3] Leermakers, M. Baeyens, W. Quevauviller, P. Horvat, M. "Mercury in Environmental Samples Speciation, Artifacts and Validation", Trends in Analytical Chemistry (2005), Volumen 24, Nro. 5.

[4] Galvão, L. y Corey, G. "Mercurio, Serie Vigilancia 7", Centro Panamericano de Ecología Humana y de la Salud, Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud, 2007.

[5] Xibiao, Y. Qian, H. Xu, P. Zhu, L. Longnecker, M. Fu, H. "Nephrotoxicity, Neurotoxicity, and Mercury Exposure Among Children With and Without Dental Amalgam Fillings", International Journal of Hygiene and Environmental Health 212 (2009), 378-386.

[6] Abdenmour, C. Khelili, K. Boulakoud, M. Nezzal, A. Boubsil, S. y Slimani, S. "Urinary Markers of Workers Chronically Exposed to Mercury Vapor", Environmental Research Section A-89 (2002), 245-249.

[7] Levy, M. Schwartz, S. Dijak, M. Weber, J. Tardif, R. y Rouah, F. "Childhood urine mercury excretion: dental amalgam and fish consumption as exposure factors". Environmental research 94 (2004), 283-290.

[8] Kim, S. Jeon, C. Paek, D. "Hair Mercury Concentrations of Children and Mothers in Korea: Implication for Exposure and Evaluation". Science of the total environment 402 (2008), 36-42.

[9] Gaceta oficial de la Republica de Venezuela, año 1995.

[10] Indoor Air Mercury, Mayo 2003.

[11] Hurtado, J. Gonzales, G. y Steenland K. "Mercury Exposures in Informal Gold Miners and Relatives in Southern Peru". International journal environmental health 12 (2006), 340-345.

[12] Richardson, G. Brecher, R. Scobie, H. Hamblen, J. Samuelian, J. y Smith, C. "Mercury Vapour (Hg^0): Continuing Toxicological Uncertainties, and Establishing a Canadian Reference Exposure Level". Regulatory Toxicology and Pharmacology 53 (2009), 32-38.

[13] Inácio, M. Pereira, V. Pinto, M. "Mercury contamination in sandy soils surrounding an industrial emission source". Geoderma, Volumen 85 (1998), 325–339.

[14] PNUMA. "Evaluación mundial sobre mercurio". Diciembre 2002.

[15] Beate, L. Boese-o'Reilly, S. y Drasch, G. "Proposal for a Revised Reference Concentration (RFC) for Mercury Vapour in Adults". Science of the total environment 408 (2010), 3530-3535.

[16] Sandborgh-Englund, G. Elinder, C. Johanson, G. Lind, B. Skare, I. y Ekstrand, J. "The Absorption, Blood Levels, and Excretion of Mercury after a Single Dose of Mercury Vapor in Humans". Toxicology and Applied Pharmacology 150 (1998), 146-153.

[17] Agreda, O. Pieters, M. y Seijas D. "Niveles Basales de mercurio en orina en escolares del Municipio San Diego, Edo. Carabobo". Gaceta médica de Caracas 116 (2008), 212-218.

[18] <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/003610.htm> revisado el día 28-07-2010.

[19] AnalytikjenaAG; Manual del espectrofotómetro de fluorescencia atómica con vapor frío.

[20] Urrutia, R. Yevenes, M. y Barra R. Determinación de los Niveles Basales de Metales Trazas en Sedimentos de Tres Lagos de Chile: Lagos Chungará, Laja y Castor. Boletín de la Sociedad Chilena de Química. v.47 n.4.

[21] Anthemidis, A. Zachariadis, G. Stratis, J. Development of a sequential injection system for trace mercury determination by cold vapour atomic absorption spectrometry utilizing an integrated gas-liquid separator/reactor. Talanta 64 (2004), 1053-1057.

[22] Hong, W. Jin, Y. Han, W. Miao, Q. Shuping, B. Non-chromatographic speciation analysis of mercury by flow injection on-line preconcentration in combination with chemical vapor generation atomic fluorescence spectrometry. Spectrochimica Acta Part B 61 (2006) 831-840.

[23] Komaromy-Hiller, G. Owen, K. Costa, R. Howerton K. Comparison of representative ranges based on U.S. patient population and literature reference intervals for urinary trace elements. Clinica Chimica Acta 296 (2000), 71-90.

[24] Kaercher, L. Goldschmidt, F. Gottfried, J. de Morales, E. Dressler V.

Skoog, Douglas. Principio de análisis instrumental, Quinta Edición, Madrid, Editorial McGraw Hill, 2001.

[25] Skoog, D., Holler, F. y Nieman, T. "Principios de Análisis Instrumental". Editorial McGraw Hill. 5º Edición. España 2001. P. 239-241.

[26] Strode S. Jaegle L. Selin N. "Impact of Mercury Emissions From Historic Gold and Silver Mining: Global Modeling". USA, Atmospheric Environment 43 (2009), 2012-2017.

[27] Kumah, A. "Sustainability and Gold Mining in the Developing World". Journal of Cleaner Production 14 (2006), 315-323.

[28] Veiga, M. Maxson, P. Hylander, L. "Origin and Consumption of Mercury in Small-scale Gold Mining". Journal of Cleaner Production 14 (2006), 436-447.

[29] United Nations Industrial Development Organization ("Unido") "Mercury Pollution from Artesanal Gold Mining in Block B, El Callao, Bolivar State, Venezuela: Health and Technological Assessment" project XP/VEN03/C04, Mayo 2004.

[30] Gunilla S. Elinder, C. Johanson, G. Lind, B. Skare, I. y Ekstrand, J. "The Absorption, Blood Levels, and Excretion of Mercury after a Single Dose of Mercury Vapor in Humans". Toxicology and Applied Pharmacology 150 (1998), 146-153.

[31] Woods, J. Martin, M. Leroux, B. DeRouen, T. Leintao, J. Bernardo, M. Luis, H. Simmonds, P. Kushleika, J. y Huang, Y. "The Contribution of Dental Amalgam to Urinary

Mercury Excretion in Children”. Environmental Health Perspectives, Volumen 115, número 10, 1527-1531.

[32] Kobal, A. “[The Impact_of Long-term past Exposure_to Elemental Mercury_on Antioxidative Capacity and lipid Peroxidation in Mercury_Miners](#)”. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology 17 (2004), 261-274.

[33] Ping, Li Feng, X. Qiu, G. Li, Z. Fu, X. Sakamoto, M. Liu, X. Wang, D. “Mercury Exposure and Symptoms in Smelting Workers of Artisanal Mercury Mines in Wuchuan, Guizhou, China”. Environmental Research 107 (2008), 108-114.

[34] Wängberg, I. Barregard, L. Sällsten, G. Haeger-Eugensson, M. Munthe, J. Sommar, J. “Emissions, Dispersion and Human Exposure of Mercury From a Swedish Chlor-Alkali Plant”. Atmospheric Environmental 39 (2005), 7451-7458.

[35] Barregard, L. Horvat, M. Mazzolai, B. Sällsten, G. Gibicar, D. Fajon, V. diBano, Sergio. Munthe, J. Wängberg, I. Haeger, M. “Urinary Mercury in People Living Near Points Sources of Mercury Emissions”. Science of the Total Environmental 368 (2006), pp 326-334.

[36] Dalvie M. y Ehrlich R. “Community Mercury Levels in the Vicinity of Peri-urban Waste Disposal Sites and Fossil Fuel Burning Operations”. Environmental International 32 (2006), 493-499.

[37] Counter, S. y Buchanan, L. “Mercury Exposure in Children: a Review”. Toxicology and Applied Pharmacology 198 (2004), 209– 230.

[38] Bose-O'Reilly, S. Lettmeier, B. Matteucci, R. Beinhoff, C. Siebert, U y Drasch, G. "Mercury as a serious health hazard for children in gold mining areas". Environmental research 107 (2008), 89-97.

[39] Rojas, M. Seijas, D. Agreda, O. y Rodríguez M. "Biological monitoring of mercury exposure in individuals referred to a toxicological center in Venezuela". Science of the Total Environment 354 (2006), 278-285.

[40] Álvarez L. y Rojas L. "Presencia de Mercurio total en habitantes de los asentamientos indígenas El Casabe, municipio autónomo Raúl Leoni y el Plomo municipio autónomo Manuel Carlos Piar – Estado Bolívar". Saber, Universidad de Oriente, Venezuela. Vol. 18. Nro. 2 (2006), 161-167.

[41] <http://www.a-venezuela.com/mapas/map/html/estados/bolivar.html> (consultada el 12 de junio del 2010 a las 13:18).

[42] Fernández P. (1996) "Determinación del Tamaño Muestral", Cad Aten Primaria 3, (e1/6-e2/6).

[43] Hernández M. (2001) "Estudio de los niveles de mercurio en profesionales expuestos del área en odontología". Trabajo de grado para optar al título de Licenciado en Química. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. Caracas.

[44] Miller James N.; Miller Jane C.; *"Estadística y Quimiometría para Química Analítica"*; 1era Edición Prentice Hall 2000.

[45] Cardozo R. (2010) "Evaluación de los niveles mercuriales en el aire de aulas en unidades educativas de El Callao, estado Bolívar". Trabajo de grado para optar al título de Licenciado en Química. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. Caracas.

[46] Lima K. (2010) "Evaluación de los niveles de mercurio total y mercurio orgánico en muestras de suelos precedentes de Instituciones Educativas del pueblo "El Callao", Estado Bolívar, Venezuela". Trabajo de grado para optar al título de Licenciado en Química. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. Caracas.

[47] Sequera S. "Determinación de los niveles de mercurio en la sangre de los niños en edad escolar de la población de El Callao, Estado Bolívar". Trabajo de grado para optar al título de Licenciado en Química. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. Caracas.

[48] [http://es.wikipedia.org/wiki/Mercurio_\(elemento\)](http://es.wikipedia.org/wiki/Mercurio_(elemento)) Consultada el 01-03-2009.

[49] <http://www.uprm.edu/socialsciences/sfaenlinea/id95.htm>
Consultada el 01-03-2009.

[50] http://www.experiencefestival.com/a/Mercury_element_-_History/id/1759325.
Consultada el 03-03-2009.

[51] <http://al-quimicos.blogspot.com/2007/02/mercurio-un-metal-especial.html>
Consultada el 04-03-2009.

[52] <http://www.gama-peru.org/libromedmin/capitulo/5/5-2-1.htm>.

Consultada el 05-03-2009.

[53] www.quimica.unam.mx/IMG/pdf/21HG.pdf. Consultada el 15-03-2009.

[54] <http://www.unicartagena.edu.co/Mercurio.htm>. Consultada el 04-03-09.

[55] <http://www.inti.gov.ar/hilo/h3/h3-1.php>. Consultada el 18/03/2009.

[56] <http://www.greenfacts.org/es/mercurio/n-3/mercurio-3.htm>.

Consultada el 16-03-2009.

[57] Bellander, T. Merler, E. Ceccarellis, F. Y Boffetta, P. "Historical Exposure to Inorganic Mercury at the Smelter Works of Abbadia, San Salvatore, Italy". British Occupational Hygiene Society 97, Volumen 42, Nro 2, 81-90.

[58] Veiga, M. Nunes, D. Klein, B. Shandro, J. Velasquez, P. Sousa, R. "Mill Leaching: A Viable Substitute for Mercury Amalgamation in the Artesanal Gold Mining Sector?". Journal of Cleaner Production 17 (2009), 1373-1381.

[59] World Health Organization. "Elemental Mercury and Inorganic Mercury Compounds: Human Health Aspects". Geneva, Suiza 2003.

[60] Li, Y. Chen, C. Li, B. Wang, J. Gao, Y. Zhao, Y. Y Chai, Z. "Scalp Hair as a Biomarker in Environmental and Occupational Mercury Exposed Populations: Suitable or not?". Environmental Research 107 (2008), 39-44.

[61] Rodrigues, J. Batista, B. Fillion, M. Passos, C. Mergler, D. Y Barbosa, F. "Trace Element Levels in Whole Blood of Riparian Villagers of the Brazilian Amazon". Science of the Total Environment 407 (2009), 4168-4173.

[62] Spierto F. Hannon, W. Gunter, E. Smith, S. "Stability of Urine Creatinine". Clinica Chimica Acta 264 (1997), 227-232.

[63] Fuller N. y Marinos E. "Factors Influencing the Production of Creatinine: Implications for the Determination and Interpretation of Urinary Creatinine and Creatine in Man". Clinica Chimica Acta 175 (1988), 199-210.

[64] Arndt T (2009). "Urine-creatinine Concentration as a Marker of Urine Dilution: Reflections Using a Cohort of 45,000 Samples". Forensic Science International 186 (2009), 48-51.

[65] Montuori P. Jover, E. Diez, S. Ribas-Fitó, N. Sunyer, J. Triassi, M. Bayona, J. "Mercury Speciation in the Hair of Pre-school Children Living Near a Chlor-alkali Plant". Science of the Total Environment 369 (2006), 51-58.

[66] Rosales M. (2009). "Estudio del contenido de elementos traza en cabello y orina de niños con Síndrome de Espectro Autista". Trabajo de grado para optar al título de Licenciado en Química. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. Caracas.

[67] Apostoli, P. Cortesi, I. Mangili, A. Elia, G. Drago, I. Gagliardi, T. Soleo, L. Valiente, T. Sciarra, G. Aprea, C. Ronchi, A. Minoia, C. "Assessment of Reference Values for

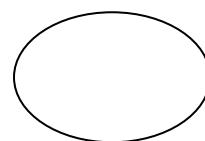
Mercury in Urine: The Results of an Italian Polycentric Study". Italia, The Science of the Total Environment 289 (2002), 13-24.

IX Apéndice

IX.1 Tabla de números aleatorios

	0	1	2	3	4		5	6	7	8	9		10	11	12	13	14		15	16	17	18	19		20	21	22	23	24
0	3	4	5	9	8		5	6	7	1	5		4	8	2	4	8		3	2	6	5	0		6	1	9	4	1
1	3	2	7	7	7		2	9	6	3	5		8	8	2	7	0		4	2	8	3	4		0	3	8	7	8
2	6	7	8	8	5		4	7	2	0	2		7	7	1	7	7		6	5	9	1	1		4	1	3	7	9
3	2	9	2	4	8		1	3	4	6	2		3	0	5	3	2		4	4	7	1	5		2	6	3	0	9
4	1	3	8	7	3		9	1	9	7	8		0	8	9	4	5		2	7	0	3	8		1	8	9	3	9
5	4	2	2	2	0		7	1	7	5	7		0	1	1	3	6		9	4	6	8	9		1	1	8	6	4
6	6	9	3	3	7		3	3	8	9	5		6	9	8	7	6		6	8	0	0	2		1	1	5	6	0
7	1	8	2	9	1		3	6	7	6	1		2	8	6	3	3		1	1	4	5	8		6	1	3	6	5
8	9	1	0	1	6		8	6	5	2	8		4	1	8	1	4		1	0	5	6	3		6	8	8	3	4
9	0	9	6	8	5		5	4	4	9	6		2	0	8	1	2		1	1	2	8	8		3	4	6	0	5
10	0	0	6	5	8		6	5	6	6	6		9	7	0	0	7		2	4	3	1	6		5	6	2	9	0
11	5	8	5	6	4		9	2	1	8	7		6	0	4	0	0		9	5	6	3	1		8	3	3	5	8
12	0	1	9	2	2		9	6	9	8	1		0	2	5	0	8		1	9	0	6	4		8	0	7	2	7
13	8	0	1	9	8		1	1	2	1	2		1	9	5	1	1		4	5	0	7	0		6	8	2	2	4
14	2	3	1	6	4		1	5	2	5	6		6	7	2	5	4		7	4	3	6	4		9	7	1	3	9
15	3	7	8	7	9		8	6	9	0	7		7	6	1	3	9		7	0	5	1	1		2	7	3	1	8
16	8	3	9	8	4		5	8	3	4	0		3	5	9	8	9		9	5	7	0	8		0	6	6	0	1
17	3	0	0	9	3		4	5	8	8	0		7	3	9	0	2		2	8	9	4	6		1	9	2	4	8
18	0	8	9	5	0		0	7	3	3	0		4	4	3	2	3		9	1	9	4	0		3	4	6	8	8
19	7	2	8	8	7		6	9	6	3	7		7	5	8	0	2		7	3	7	8	5		0	1	6	4	5
20	3	0	9	5	7		7	7	1	3	3		3	1	1	0	3		2	7	9	8	0		4	7	9	9	0
21	4	3	5	9	3		2	0	4	2	2		7	1	7	5	0		3	6	2	0	5		8	1	9	2	5
22	9	3	7	6	2		1	9	6	2	4		9	4	7	2	4		3	7	9	1	9		9	0	9	6	0
23	9	3	3	5	6		7	0	1	0	5		0	4	3	6	1		6	9	6	5	5		9	8	2	7	0
24	6	8	3	5	4		1	6	4	1	4		4	4	2	1	7		3	4	5	4	3		0	9	0	9	9
25	6	2	3	4	1		9	9	1	6	7		0	8	7	8	6		7	0	6	5	8		6	7	5	7	1
26	6	1	8	8	2		6	5	2	4	7		6	3	5	6	8		5	7	2	5	7		1	7	6	1	5
27	4	0	6	6	1		6	6	1	4	4		8	7	5	4	3		0	6	6	5	1		7	4	3	8	4
28	1	4	0	6	6		7	2	3	7	2		6	1	2	7	4		5	9	3	5	3		3	7	5	5	4
29	0	7	8	1	1		0	0	7	9	0		1	9	5	6	1		2	3	4	2	4		4	4	1	7	8
30	3	4	6	2	3		0	1	3	1	3		6	1	3	4	7		9	8	1	3	5		1	6	6	4	4
31	8	4	2	9	9		0	2	6	8	6		5	2	6	8	6		8	6	2	2	8		8	4	0	1	9
32	5	2	5	6	1		0	4	8	3	8		9	4	0	9	4		4	2	1	1	4		0	9	7	2	3
33	2	1	4	5	8		7	5	8	6	4		1	7	3	6	9		0	5	9	7	2		9	8	6	5	7
34	2	4	6	3	7		5	4	4	4	9		7	7	5	9	2		9	0	8	5	3		5	5	9	9	9
35	0	0	1	1	3		2	1	8	5	3		6	7	9	1	2		5	8	8	4	0		8	3	4	0	8
36	5	0	8	7	3		2	3	6	6	0		9	7	7	9	2		2	0	9	8	5		8	9	6	7	6
37	9	5	3	8	8		9	5	5	3	4		4	8	4	4	7		3	4	2	4	1		9	7	4	3	2

IX.2 Encuesta



Fecha: / / N°
Escuela _____ Grado _____

Datos de los padres

1. Nombres

Padre _____ Madre _____

2. Edad padre _____ madre _____

3. Dirección _____

Distancia de la vivienda con respecto

4. A la escuela	1-2 cuadras	3-4 cuadras	más de 5 cuadras
5. A un molino			
6. A una mina			
7. A un taller			
8. Una fundición			

9. Ha tenido abortos No ☐ 1-2 ☐ > 3 ☐

10. N° de hijos 1-3 ☐ 4-6 ☐ 7-10 ☐ más de 10 ☐

Datos profesión o oficio

11. Trabajo la madre No ☐ Si ☐ minería ☐ joyero ☐ venta de joyas ☐
otro, cual? _____

12. Tiempo trabajando 1-10 años ☐ 10-20 años ☐ más de 20 años ☐

13. Trabaja el Padre No ☐ Si ☐ Molinero/ ☐ Minero/ ☐ joyero ☐

Venta de oro ☐ otro, cual? _____

Tiempo trabajando 1-10 años ☐ 10-20 años ☐ más de 20 años ☐

14. Trabaja en la casa No ☐ Si ☐

15. El niño lo acompaña al lugar de trabajo No ☐ Si ☐

Datos personales del niño

16. Nombre y Apellido _____

17. Sexo M ☐ F ☐ Edad ☐

18. Peso _____ Talla _____

19. Duración del embarazo normal ☐ prematuro ☐

20. Parto normal ☐ Cesaría ☐

21. Periodo de lactancia/meses 1-6 ☐ 6-12 ☐ más de 12 ☐
22. Nació en el callao No ☐ Si ☐
23. Tiempo de residencia en el callao 1-5años ☐ 6-10 ☐ más de 10 años ☐
24. Tiene amalgamas No ☐ Si ☐ Cuantas? 1-2 ☐ 3-4 ☐ más de 5 ☐

Vacunas y medicamentos

25. Tiene la vacuna de fiebre amarilla	NO	SI	
26. Tiene todas las vacunas	NO	Si	
27. Consume algún medicamento	NO	Si	Cual?
28. Consume vitaminas	NO	Si	Cual?
29. Consume algún te o hiervas	NO	Si	Cual'

Hábitos alimenticios del niño

	esporádicamente	1-2 veces /semana	3-4 veces /semana	>5 veces/semana	observación
30. Pescado					
31. Carne rojas					
32. Pollo					
33. Cereales					
34. Granos					
35. Vegetales					
36. Frutas					
37. Leche					
37 Otros Lácteos					
39. Gaseosas					
40. tuberculos					
41. Vegetales verdes					
42. enlatados					
43. Atún/sardina					
44. Diablito y otros					

Algunos síntomas

Dolor de cabeza				
Dolor abdominal				
Dificultad visual				
Dificultad auditiva				
Pérdida del equilibrio				
Problemas de atención				

Autorización

Yo, _____ portador de la CI _____ autorizo a la Universidad Central de Venezuela, en nombre de la Prof. Nereida Carrión, declaro de forma voluntaria y por escrito que he recibido la información completa de mi participación en la actividad realizada, en la población de “El Callao”, y los autorizo para la recolección y análisis de las muestras para la determinación de mercurio.

Representante

Dr. Nereida Carrión

Testigo

IX.3 Modelo de cálculo en la determinación de mercurio

Para la determinación de mercurio se realiza el siguiente cálculo:

Tubo	(P _{vacío} ± 0,003) g	(P _{muestra} ± 0,001) g	(P _{total} ± 0,001) g	Peso final muestra (g)
1	16,9965	9,8193	30,0092	13,0127
2	13,1308	9,8796	26,2147	13,0839

Para calcular el peso final se resto el valor del peso total menos el peso del tubo vacío.

Se realizo una curva de calibración con patrones de 0,10; 0,50; 1,00; 3,00; 5,00 µg/L y se obtuvo la grafica de la figura.

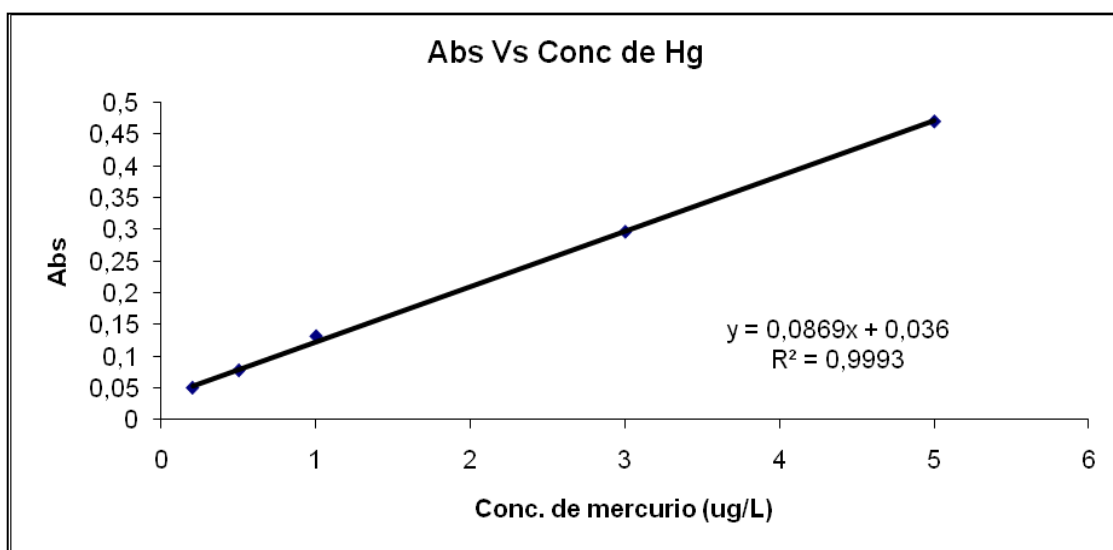


Figura Curva de calibración de diferentes concentraciones de patrones de Hg.

Cuando se obtiene la señal se realiza una regresión lineal, usando la siguiente ecuación:

$$\text{Conc muestra diluida } (\mu\text{g Hg/L}) = ((\text{Señal-Señal Blanco}) - \text{Pto de corte}) \div \text{Pediente}$$

Para obtener el valor real de la concentración de Hg en la muestra de orina de 24 horas se realizó el siguiente cálculo:

$$\text{Conc Muestra } (\mu\text{g/L}) = \text{Conc Muestra diluida} \times (\text{peso final muestra} / \text{peso muestra})$$

Replica	Señal	Señal-Blanco	Conc muestra diluida ($\mu\text{g/L}$)	Conc muestra ($\mu\text{g/L}$)
1.1	0,2373	0,2177	2,0907	11,7977
1.2	0,2749	0,2553	2,5234	13,2969
(Promedio $\pm$ δ) ($\mu\text{g/L}$)				11,80 $\pm$ 2,12

IX.3 Modelo de cálculo en la determinación de creatinina

Para la determinación de la creatinina se realizó el siguiente cálculo:

Inicialmente se realizó una curva de calibración con patrones de 3, 5, 10 y 20 mg creat/ L y se obtuvo la grafica mostrada en la figura

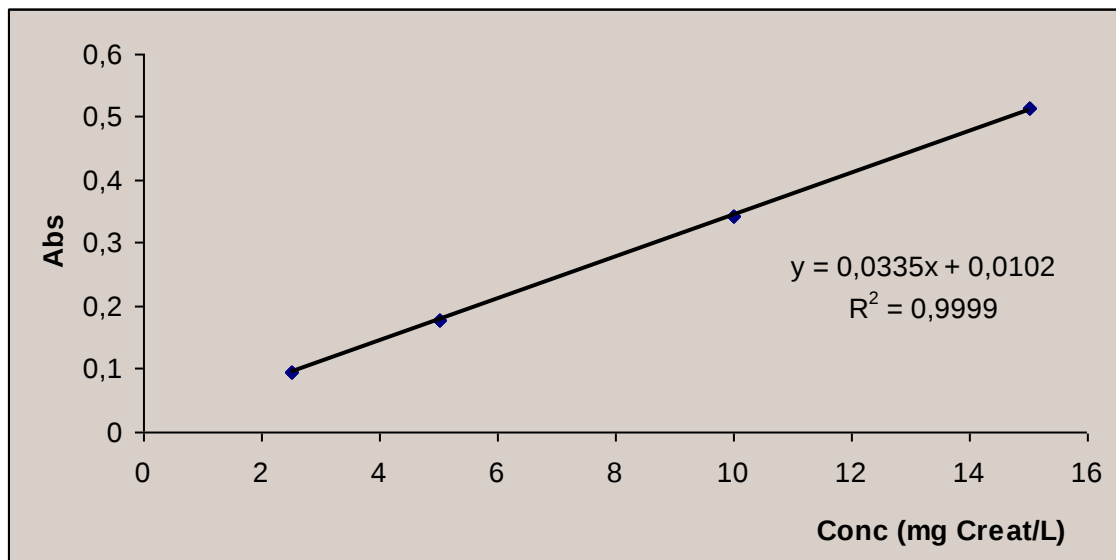


Figura 20. Representación típica de una curva de calibración usada para la cuantificación de la creatinina.

La absorbancia de la muestra son las siguientes:

0,185; 0,178; 0,185

Se realizó una regresión lineal con la ecuación de la recta

Conc muestra diluida (mg creat/ L) = ((Señal- Pto de corte) ÷ Pediente

Para obtener el valor real de la concentración de creatinina en la muestra de orina de 24 horas se realizó el siguiente cálculo:

Conc Muestra (mg creat/ L) = Conc Muestra diluida x (25 / 0,30)

Abs Muestra	Conc muestra diluida (mg creat/L)	Conc muestra (mg creat/L)
0,185	5,2	343
0,178	5,0	330
0,185	5,2	343
	(Promedio $\pm$ δ) (mg creat/L)	339$\pm$8