



UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK

FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES

Trabajo de Fin de Carrera Titulado:

**“LÍMITES DE DETECCIÓN Y APRECIACIÓN DE Cu, Ni, Zn, Cd EN AGUAS,
SUELOS Y SEDIMENTOS DE LA RESERVA BIOLÓGICA LIMONCOCHA PARA
SU VALIDACIÓN ANALÍTICA 2015-2017”**

Realizado por:

JENNIFER NICOLE ÁLVAREZ CASTILLO

Director del proyecto:

MSc. Katty Coral Carrillo

Como requisito para la obtención del título de:

INGENIERA AMBIENTAL

Quito, 27 de julio de 2017

DECLARACION JURAMENTADA

Yo, JENNIFER NICOLE ÁLVAREZ CASTILLO, con cédula de identidad # 172303013-4, declaro bajo juramento que el trabajo aquí desarrollado es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración, cedo mis derechos de propiedad intelectual correspondientes a este trabajo, a la UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su reglamento y por la normativa institucional vigente.



Jennifer Nicole Álvarez Castillo

C.I. 172303013-4

DECLARATORIA

El presente trabajo de investigación titulado:

**“LÍMITES DE DETECCIÓN Y APRECIACIÓN DE Cu, Ni, Zn, Cd EN AGUAS,
SUELOS Y SEDIMENTOS DE LA RESERVA BIOLÓGICA LIMONCOCHA PARA
SU VALIDACIÓN ANALÍTICA 2015-2017”**

Realizado por:

JENNIFER NICOLE ÁLVAREZ CASTILLO

como Requisito para la Obtención del Título de:

INGENIERA AMBIENTAL

Ha sido dirigido por el profesor

KATTY VERÓNICA CORAL CARRILLO

Quien considera que constituye un trabajo original de su autor



Katty Verónica Coral Carrillo

DIRECTOR

LOS PROFESORES INFORMANTES

Los Profesores Informantes:


MIGUEL MARTÍNEZ-FRESNEDA

IVONNE CARRILLO

Después de revisar el trabajo presentado,
lo han calificado como apto para su defensa oral ante
el tribunal examinador



Miguel Martínez-Fresneda



Ivonne Carrillo

Quito, 27 de Julio de 2017

DEDICATORIA

Dedicado a mi familia, padres, hermano y amigos
así como a todos los alumnos y profesores
de la Facultad de Ciencias Naturales y Ambientales de la
Universidad Internacional SEK.

AGRADECIMIENTOS

A *Dios* por todas las bendiciones que me regala día a día y porque hizo realidad un sueño anhelado

A mis *padres*, Edgar y Mariana, por todo su amor y apoyo a lo largo de mi vida, por ser mí mejor ejemplo de responsabilidad, honestidad, amor y esfuerzo, por siempre animarme y guiarme para alcanzar mis sueños y objetivos. Sobre todo agradezco porque todo lo que soy se lo debo a ellos y todo lo que seré reflejará lo que ellos hicieron en mí.

A mi *hermano*, Pablo, por siempre apoyarnos mutuamente para alcanzar nuestros objetivos y por siempre estar presente acompañándome.

A mi *novio*, Miguel, por su amor, entrega y paciencia, por valorarme por la persona que soy, por sacar mi mejor versión, por ayudarme en mis dificultades y por siempre compartir momentos de alegría en mi vida.

A mis *amigos* por su compañía, amistad y apoyo a lo largo de la carrera.

A mis *profesores*, por ser esa guía para ser unos excelentes profesionales y por enseñarnos a ser mejores personas.

Un especial agradecimiento a *Katty Coral*, por brindarme su apoyo, confianza y las herramientas necesarias para elaborar este trabajo de titulación con excelencia, por prepararme para un futuro competitivo y formarme como una persona de bien.

Finalmente a *Miguel Martínez-Fresneda e Ivonne Carrillo*, miembros del tribunal por su apoyo y conocimiento aportado para la finalización de este trabajo.

ÍNDICE GENERAL

Portada	i
Dedicatoria	vi
Agradecimientos	vii
Índice general de contenidos	viii
Índice de tablas	ix
Índice de figuras	x
Índice de ecuaciones	x
Resumen	2
Abstract	3
Introducción	4
Metodología	14
Materiales	14
Equipos	14
Reactivos	15
Área de estudio	15
Métodos de laboratorio	17
Parámetros analíticos de calidad para la validación del método	18
Parámetros de validación y fijación de objetivos para Cu, Ni, Zn y Cd	20
Resultados y discusiones	23
Discusión general	23
Discusión sobre la determinación de Cu en aguas	24
Discusión sobre la determinación de Cu en suelos	24
Discusión sobre la determinación de Cu en sedimentos	24
Discusión sobre la determinación de Zn en aguas	26
Discusión sobre la determinación de Zn en suelos	26
Discusión sobre la determinación de Zn en sedimentos	26
Discusión sobre la determinación de Ni en aguas	28
Discusión sobre la determinación de Ni en suelos	29
Discusión sobre la determinación de Ni en sedimentos	29
Discusión sobre la determinación de Cd en aguas	31
Discusión sobre la determinación de Cd en suelos	31

Discusión sobre la determinación de Cd en sedimentos	31
Conclusiones	33
Referencias bibliográficas	34
Anexos	37
Anexo I: Ubicación de los puntos de muestreo en aguas, suelos y sedimentos.....	38
Anexo II: Fotografías estándares de Cobre, Níquel, Zinc y Cadmio.....	38
.....	39
Anexo III: Digestión de muestras de aguas, suelos y sedimentos.....	40
Anexo IV: Muestras agua, suelo y sedimento de Cu, Ni, Zn y Cd para validación analítica.....	41
Anexo V: Material de referencia certificado 8704 para suelos y sedimentos.....	44
Anexo VI: Fotografía del Material de referencia certificado 8704 para suelos y sedimentos.....	48

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Fuentes antrópicas de metales pesados	6
Tabla 2: Criterios de calidad para la preservación de la vida acuática y silvestre en aguas dulces, marinas y de estuario. (TABLA II)	8
Tabla 3: Criterios de calidad de suelos. (TABLA I)	9
Tabla 4: Parámetros de validación y fijación de objetivos de cobre	21
Tabla 5: Parámetros de validación y fijación de objetivos de zinc	21
Tabla 6: Parámetros de validación y fijación de objetivos de níquel.....	22
Tabla 7: Parámetros de validación y fijación de objetivos de cadmio	22
Tabla 8: Datos primarios para validación de Cobre en aguas, suelos y sedimentos	25
Tabla 9: Resultados de validación de Cobre en aguas, suelos y sedimentos.....	25
Tabla 10: Datos primarios para validación de Zinc en aguas, suelos y sedimentos.....	27
Tabla 11: Resultados de validación de Zinc en aguas, suelos y sedimentos	28
Tabla 12: Datos primarios para validación de Níquel en aguas, suelos y sedimentos	30
Tabla 13: Resultados de validación de Níquel en aguas, suelos y sedimentos	30
Tabla 14: Datos primarios para validación de Cadmio en aguas, suelos y sedimentos	32
Tabla 15: Resultados de validación de Cadmio en aguas, suelos y sedimentos.....	33

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Espectrofotómetro de absorción atómica con llama	14
Figura 2: Espectrofotómetro de Absorción atómica de horno de grafito	15
Figura 3: Mapa de la Reserva Biológica Limoncocha	16
Figura 4: Curva de calibración para Cu	25
Figura 5: Curva de calibración para Zn.....	28
Figura 6: Curva de calibración para Cd	33
Figura 7: Estándares de 1 mg/L a 4 mg/L de Cobre	38
Figura 8: Estándares de 5 mg/L a 20 mg/L de Níquel	39
Figura 9: Estándares de 1 mg/L a 2 mg/L de Zinc.....	39
Figura 10: Estándares de 5 mg/L a 10 mg/L de Cadmio.....	40
Figura 11: Digestión aguas	40
Figura 12: Digestión de suelos y sedimentos.....	41
Figura 13: Muestras de aguas, suelos y sedimentos de Cu	41
Figura 14: Muestras de aguas, suelos y sedimentos de Ni.....	42
Figura 15: Muestras de aguas, suelos y sedimentos de Zn	42
Figura 16: Muestras de aguas suelos y sedimentos de Cd	43
Figura 17: Reference Material 8704 Buffalo River Sediment	48
Figura 18: Reference Material 8704 Buffalo River Sediment	48

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1: Cálculo para la determinación del límite de detección.....	19
Ecuación 2: Cálculo para la determinación del límite de cuantificación	19
Ecuación 3: Cálculo para la determinación del porcentaje de recuperación	19
Ecuación 4: Cálculo para la determinación de la repetibilidad	19
Ecuación 5: Cálculo para la determinación del intervalo de confianza.....	19

Para someter a: *Rev. AIDIS de Ingeniería y Ciencias Ambientales*

To be submitted : *Rev. AIDIS de Ingeniería y Ciencias Ambientales*

**LÍMITES DE DETECCIÓN Y APRECIACIÓN DE Cu, Ni, Zn, Cd EN AGUAS,
SUELOS Y SEDIMENTOS DE LA RESERVA BIOLÓGICA LIMONCOCHA PARA
SU VALIDACIÓN ANALÍTICA 2015-2017.**

**LIMITS OF DETECTION AND ASSESSMENT OF Cu, Ni, Zn, Cd IN WATERS,
SOILS AND SEDIMENTS OF THE LIMONCOCHA BIOLOGICAL RESERVE FOR
ANALYTICAL VALIDATION 2015-2017.**

Nicole Alvarez¹, Katty Coral^{1*}

¹ Universidad Internacional SEK, Facultad de Ciencias Naturales y Ambientales, Quito,
Ecuador.24/7/17 2:48:30 a.48.p.48.

*AUTOR DE CORRESPONDENCIA: MSc. Katty Coral, Universidad Internacional SEK,
Facultad de Ciencias Naturales y Ambientales, Quito, Ecuador.
Teléfono: 0983084617; email: katty.coral@uisek.edu.ec

Título corto o Running title: Límites de detección y apreciación de Cu, Ni, Zn, Cd

Resumen

Se realizó la validación analítica empleando metodologías probadas, materiales de referencia certificados y reactivos de alta pureza para analizar Cu, Ni, Zn y Cd por medio del equipo de Espectrofotómetro de Absorción atómica de horno de grafito (GFAAS) y el Espectrofotómetro de absorción atómica con llama (EAA) del laboratorio de la Universidad Internacional SEK (UISEK). El muestreo se realizó en la Reserva Biológica Limoncocha tomando seis puntos para suelos y ocho puntos para aguas y sedimentos. La finalidad de este proyecto fue aplicar la metodología más precisa para la determinación de: límites de detección y cuantificación, porcentaje de recuperación, coeficiente de repetibilidad e intervalo de confianza para los metales mencionados anteriormente, con estos parámetros se puede verificar que los datos obtenidos para estudios de línea base son confiables, exactos e inferiores a los límites máximos permisibles normados en la legislación ecuatoriana. Los resultados obtenidos fueron: % de recuperación 102,360%; intervalo de confianza +/- 0,003 en aguas, +/-0,457 en suelos y +/- 0,773 en sedimentos; límite detección de $0,003 \text{ mgL}^{-1}$; límite de cuantificación de $0,005 \text{ mgL}^{-1}$ de Cu; % de recuperación 105,31; intervalo de confianza +/- 0,018 en aguas, +/-0,244 en suelos y +/- 0,558 en sedimentos; límite detección de $0,026 \text{ mgL}^{-1}$; límite de cuantificación de $0,030 \text{ mgL}^{-1}$ de Zn; % de recuperación 92.025; intervalo de confianza +/- 0,010 en aguas, +/-0.219 en suelos y +/- 0,423 en sedimentos; límite detección de $0,024 \text{ mgL}^{-1}$; límite de cuantificación de $0,028 \text{ mgL}^{-1}$ de Ni. % de recuperación 104.083; intervalo de confianza +/- 0.004 en aguas, +/-0.409 en suelos y +/- 0,837 en sedimentos; límite detección de $0,001 \text{ mgL}^{-1}$; límite de cuantificación de $0,002 \text{ mgL}^{-1}$ de Cd. Este trabajo pretende aportar una mayor credibilidad y confiabilidad a la metodología analítica de metales en las investigaciones de la Facultad de Ciencias Naturales y Ambientales de la UISEK.

Palabras clave: Ecuador, Reserva Biológica, Límites de cuantificación, Límites de detección, Metales pesados, Validación analítica

Abstract

Analytical validation was performed using proven methodologies, certified reference materials and high purity reagents to analyze Cu, Ni, Zn and Cd using the graphite furnace Atomic Absorption Spectrophotometer (GFAAS) equipment and the Atomic Absorption Spectrophotometer with Flame (EAA) from the laboratory of SEK International University (UISEK). Sampling was performed in the Limoncocha Biological Reserve, taking six soil points and eight water and sediment points. The purpose of this project was to apply the most accurate methodology for the determination of: limits of detection and quantification, percentage of recovery, coefficient of repeatability and confidence interval for the metals mentioned above, with these parameters it can be verified that the data obtained for Baseline studies are reliable, accurate, and below the maximum permissible limits set forth in Ecuadorian legislation. The results obtained were: % recovery 102.360%; Confidence interval +/- 0.003 in waters, +/- 0.457 in soils and +/- 0.773 in sediments; Limit detection of 0.003 mgL^{-1} ; Limit of quantification of 0.005 mgL^{-1} of Cu; % Recovery 105.31; Confidence interval +/- 0.018 in water, +/- 0.244 in soils and +/- 0.558 in sediments; Limit detection of 0.026 mgL^{-1} ; Limit of quantification of 0.030 mgL^{-1} of Zn; % Recovery 92.025; Confidence interval +/- 0.010 in waters, +/- 0.219 in soils and +/- 0.423 in sediments; Limit detection of 0.024 mgL^{-1} ; Limit of quantification of 0.028 mgL^{-1} of Ni. % Recovery 104.083; Confidence interval +/- 0.004 in waters, +/- 0.409 in soils and +/- 0.837 in sediments; Limit detection of 0.001 mgL^{-1} ; Limit of quantification of 0.002 mgL^{-1} of Cd. This work aims to provide a greater credibility and reliability to the analytical methodology of metals in the investigations of the Faculty of Natural and Environmental Sciences of the UISEK.

Key Words: Contamination, Ecuador, Limits of quantification, Limits of detection, Heavy metals, Analytical validation

Introducción

La densidad de un metal pesado cuando se encuentra en forma elemental es igual o superior a 5 g/cm^3 , su concentración promedio en la corteza terrestre es inferior al 0.1% y en ciertos casos menor a 0.01%, excepto el Fe que se encuentra en un 5% (Remache, 2013; Sagardoy, 2011).

Los metales pesados se dividen en dos grupos que son: oligoelementos o micronutrientes y metales pesados sin función biológica. Los oligoelementos o micronutrientes son necesarios para que los organismos completen su ciclo vital, sin embargo, pasada cierta cantidad se tornan potencialmente tóxicos, en este grupo se encuentran: As, B, Co, Cr, Mo, Mn, Ni, Se, Zn (Sagardoy, 2011).

Por otro lado, los metales pesados sin función biológica conocida, son otro grupo de metales pesados en los que su presencia en determinadas cantidades producen problemas en el funcionamiento de los organismos, ya que tienen la capacidad de acumularse en los seres vivos, tienen fuertes efectos tóxicos y son una amenaza ambiental. Principalmente son el Cd, Hg, Pb, Cu, Sb, Bi (Remache, 2013).

El origen de los metales pesados pueden ser natural, es decir, debido a los ciclos biológicos y geológicos (Remache, 2013). Las fuentes naturales a su vez se clasifican según su origen ya sea producto del meteorismo o por emisiones volcánicas. Los metales pesados se encuentran en los minerales primarios y coprecipitados con los minerales secundarios (Bautista, 1999).

También pueden ser de origen antrópico, es decir, debido a la intervención humana en el ciclo biogeoquímico de los metales pesados que con el pasar del tiempo ha ido aumentando paralelamente al desarrollo industrial y tecnológico; en las lagunas los principales orígenes antropogénicos pueden ser agropecuarios, domésticos, recreativos, industriales y mineros (Delgadillo et al., 2016).

Según (Remache, 2013), las fuentes antrópicas se las puede clasificar en fijas y móviles dependiendo de la procedencia que tengan. Dentro de las fijas existen las industrias y de las móviles se tiene los lodos residuales, fertilizantes, las cenizas, pesticidas y humos, transportados a través del viento de manera esporádica.

Los metales tienen tres vías de entrada en un ecosistema ya sea vía atmosférica producido principalmente por la combustión de combustibles fósiles y procesos de fundición de metales; por vía terrestre por lixiviación de residuos sólidos y precipitación atmosférica; y por vía directa se da a consecuencia de los vertidos directos de aguas residuales industriales y urbanas (Delgadillo et al., 2016).

La importancia de analizar metales pesados en aguas, suelos y sedimentos es debido a su elevada toxicidad, alta persistencia y rápida acumulación en los organismos vivos y en el ambiente, adicionalmente la toxicidad es proporcional a la facilidad de ser absorbidos por los seres vivos, un metal disuelto en forma iónica puede absorberse más fácilmente que estando en forma elemental, y si esta se halla reducida finamente aumentan las posibilidades de su oxidación y retención por los diversos órganos (AECOSAN, 2009; Remache, 2013).

Los metales pesados presentes en aguas, suelos y sedimentos tienen una importante repercusión en el ambiente y en la salud de los habitantes de las comunidades cercanas ya sea por actividades antropogénicas o por acción natural, muchos de los contaminantes que ingresan a un cuerpo de agua superficial, quedan retenidos en los sedimentos que se depositan en el fondo del cauce causando efectos tóxicos sobre los sistemas acuáticos y no acuáticos (Estreves et al., 1996; Bohn et al., 2001).

Los metales pesados son estables y persistentes en ambientes acuáticos, los sedimentos de los ríos son depósitos de metales pesados, debido a que retienen o acumulan con mayor facilidad que en el agua, por lo que deben considerarse de alto interés científico. La distribución

de los metales pesados en los sedimentos del fondo se ve afectada por la composición mineral y por la influencia antropogénica (Feria, *et al.*, 2010).

Una de las actividades que se realizan en la zona de estudio es la industria petrolera, que puede provocar la aparición y persistencia de metales pesados en las distintas fases operativas, por lo cual es indispensable mantener un control periódico y adecuado para establecer un correcto sistema de gestión. La Reserva Biológica de Limoncocha (RBL) se encuentra ubicada dentro de un bloque de producción hidrocarburífera manejada en la actualidad por PetroAmazonas EP (ECOLAP y MAE, 2007), esta región es parte de la selva amazónica y es definida como una de la zonas con un alto endemismo y diversidad biológica (Mainville *et al.*, 2006).

Como ya se mencionó anteriormente, los metales pueden encontrarse en la naturaleza de forma natural o antropogénica, por lo que es indispensable contar con datos confiables que permitan una evaluación continua de la zona, tomando en cuenta que los metales permanecen durante décadas, presentes en el agua, en los sedimentos y el suelo.

Existen otras actividades que puedan generar la presencia de metales pesados en el lugar, tales como actividades agrícolas por el uso de fertilizantes inorgánicos, pesticidas, estiércol; sin embargo la principal fuente de contaminación son las actividades industriales ya que son las que mayores impactos ambientales e impactos sociales producen en las zonas cercanas (Galán & Romero, 2008). En la Tabla 1, se enumeran algunas fuentes antrópicas de metales pesados.

Tabla 1: Fuentes antrópicas de metales pesados

Fuentes	Metales Pesados
Lodos residuales	Cd, As, Pb, Cr, Zn, Co, B, Be, Br, Ce, Cu, Mn, Ge, Hg, Mo, Ni, Rb, Sn, Sr, V y Zr.
Riego	Cd, Pb, Se.
Fundidoras	Cd, Pb, Se, As, Sb, In y Hg
Plaguicidas	Pb, As, Hg, Br, Cu, V y Zn

Fertilizantes	Cd, As, B, Ba, Br, Ce, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Sr, Se, Sc, Sn, Te, U, V, Zn y Zr
Abonos	As, Se, Ba, Br, Co, Cr, Cu, F, Ge, Mn, Ni, Pb, Sr, Zn y Zr.
Carbonatos	As, B, Ba, Ce, Cr, Cu, F, Mn, Mo, Ni, Pb, Sr, V, Zn y Zr

Fuente: (Bautista, 1999).

La causa del deterioro o en casos extremos la muerte de flora y fauna que existe hoy en día es debido a la exposición a metales pesados, si bien es cierto, en la actualidad se tiene más conocimiento acerca de los efectos de estos elementos y se ha generado conciencia, sin embargo, dicha exposición está relacionada con problemas de salud como retrasos en el desarrollo, varios tipos de cáncer, daños en el riñón, e incluso la muerte (Remache, 2013).

Todas las actividades que están envueltas en la exploración del petróleo provocan impactos negativos sobre el ambiente y sobre las personas que están en contacto con él, generalmente las operaciones en una explotación petrolera tienen consecuencias muy perjudiciales a corto o a largo plazo (Navas & Rodríguez, 2010).

Es importante señalar que durante la fase de perforación es donde se producen la mayor cantidad de impactos como pérdida de biodiversidad, erosión del suelo, interrupción de flujos de agua, generación de residuos tóxicos y desplazamiento de la fauna (Navas & Rodríguez, 2010). La presencia de metales pesados que se producen en la fase de perforación son favorables para el medio solo si se presentan en pocas cantidades, al contrario, estos tienen severos impactos ambientales y sociales.

El cadmio es una sustancia natural presente en la corteza terrestre, se encuentra como mineral combinado con otras sustancias tales como oxígeno o azufre. Adicionalmente entra al agua y al suelo por derrames o escapes en sitios de desechos peligrosos. Se adhiere fuertemente a partículas en la tierra y una vez presente en el ambiente, persiste en este y si es absorbido por cualquier organismo puede permanecer durante décadas antes de ser excretado (ATSDR, 1999;

Bravo, 2007), causa afecciones renales y cardiovasculares, cáncer, anemia y alteraciones hepáticas (Remache, 2013). Su toxicidad es igual a la del zinc (Kraus, 2012).

El níquel requiere métodos muy sensibles para ser detectado en las muestras, debido a que se encuentra en niveles muy bajos en el ambiente. El níquel puede ser liberado al ambiente por las chimeneas de grandes hornos usados por plantas de energía e incineradores de basura y por aguas residuales industriales, se adhiere a pequeñas partículas de polvo que se depositan en el suelo (ATSDR, 1999). Adicionalmente se puede encontrar con frecuencia en cantidades muy pequeñas en los crudos de petróleo (Kraus, 2012).

El cobre es un metal que no se acumula, se considera relativamente no tóxico, sin embargo en exceso puede manifestar toxicidad. El cobre en el ambiente se presenta en diversas sales minerales y compuestos orgánicos, así como en forma metálica (Agurto, 2016). Es tóxico en algas y plantas, causa daños en el sistema digestivo, al riñón e hígado (Remache, 2013).

En cuanto al análisis de agua, suelo y sedimentos de la investigación se utilizó el Acuerdo Ministerial 097A vigente desde noviembre del 2015 reforma del Texto Unificado de Legislación Secundaria libro VI.

Referente al recurso agua se tiene la tabla I de las norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes, tabla II de los criterios de calidad para la preservación de la vida acuática y silvestre en aguas dulces, marinas y de estuario.

Tabla 2: Criterios de calidad para la preservación de la vida acuática y silvestre en aguas dulces, marinas y de estuario. (TABLA II)

PARÁMETROS	EXPRESADOS COMO	UNIDAD	CRITERIO DE CALIDAD	
			AGUA DULCE	AGUA MARINA Y DE ESTUARIO
Cobre	Cu	mg/L	0.005	0.005
Níquel	Ni	mg/L	0.025	0.1
Zinc	Zn	mg/L	0.03	0.015
Cadmio	Cd	mg/L	0.001	0.005

Fuente: Acuerdo Ministerial 097A

Referente al suelo se tiene la normativa vigente para parámetros inorgánicos en el Acuerdo Ministerial 097A, Tabla I los criterios de calidad de suelo.

Tabla 3: Criterios de calidad de suelos. (TABLA I)

PARÁMETROS INORGÁNICOS		
PARÁMETRO	UNIDADES	VALOR
Cobre	mg/kg	25
Níquel	mg/kg	19
Zinc	mg/kg	60
Cadmio	mg/kg	0.5

Fuente: Acuerdo Ministerial 097A

La Amazonía ecuatoriana es considerada como un ecosistema diverso, heterogéneo y sumamente frágil por la presencia de una gran cantidad de especies que habitan en la zona, también por su superficie y categorización. Las Reservas Biológicas constituyen uno de los ecosistemas más importantes del Ecuador, por esta razón deben ser manejadas con acciones que se inclinen al desarrollo sustentable y sostenible de sus recursos con el objetivo de preservarlo y conservarlo (Armas & Lasso, 2011), adicionalmente es importante en una Reserva Biológica ampliar la investigación científica, la comunicación y la educación, así como generar conciencia para el correcto manejo de ecosistemas (Armas & Lasso, 2011). Sin datos de fondo o base, resulta imposible mantener un control efectivo sobre el medio fisicoquímico de la reserva, lo que se agrava al encontrarse la RBL dentro de un bloque de producción hidrocarburífera, existiendo producción agrícola y actividad antropogénica en general.

Uno de los principales objetivos de una reserva biológica es proporcionar facilidades y oportunidades en ambientes naturales para la investigación científica, así como para el conocimiento de los procesos que ocurren en el ambiente (Ulloa, 1988). En la RBL se han realizado varias investigaciones de carácter socio-ambientales que han permitido un continuo desarrollo gracias a que la Universidad Internacional SEK dispone de la Estación Científica de Limoncocha (Ecolap & Mae, 2007), adicionalmente se están realizando estudios dentro de la línea de investigación “Conservación y Biodiversidad en la Reserva Biológica de Limoncocha”

permitiendo la evaluación de la concentración de metales pesados en los componentes biótico y abiótico de la RBL (Agurto, 2016), que permitirán disponer de valores confiables para desarrollar sistemas de evaluación y seguimiento permanentes.

Existen también estudios previos acerca de los parámetros limnológicos en la Laguna de Limoncocha, de entre los cuales se destacan: la “Caracterización limnológica de la laguna de Limoncocha en el periodo 2001” y su continuación “Caracterización limnológica de Limoncocha e identificación de las características hidrológicas en el periodo de 2002-2003”(Cerón, 2016).

Cabe mencionar el estudio “Caracterización geoquímica de sedimentos de la Laguna Limoncocha”, elaborado por Ordoñez (2013). Éste abordó la caracterización geoquímica de sedimentos de la laguna mediante la realización de ensayos físicos, análisis químicos y mineralógicos. Además, se determinó la concentración de metales pesados (Co, Pb, Mn, Cd, Cu, Zn, Ni, Sn, Cr, Ti, V y Ba) en los sedimentos de la laguna, realizando un pre- tratamiento de las muestras por el método USEPA 3050 “Digestión ácida de sedimentos, lodos y suelos”. La cuantificación del contenido de metales se realizó mediante el método de Espectrometría de Absorción Atómica con llama (EAA) (Ordoñez, 2013).

Por definición, la validación es confirmar que el método tiene un correcto desempeño y cumple con los requisitos para una utilización o aplicación específica (Cáñez & García, 2015; Eurachem, 2005), adicionalmente la validación examina las características de desempeño del método permitiendo identificar los factores que pueden influir en el cambio de los resultados, lo que permite demostrar que el método es apto para el propósito y así resolver un problema analítico (Cáñez & García, 2015).

Según la (OIE, 2009) la validación es un proceso que determina la idoneidad de una prueba que se ha desarrollado, optimizado y estandarizado adecuadamente para un fin concreto.

La validación incluye estimaciones de las características de rendimiento analítico y diagnóstico de una prueba. El objetivo de cualquier medición analítica es obtener información consistente, confiable y precisa, ya que los métodos analíticos juegan un papel importante en el cumplimiento de este objetivo (Iturra, 2012).

Según la (ISO/IEC 17025) validar un método es la confirmación, a través del examen y aportación de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico.

La validación trata de disminuir o controlar los factores que llevan a la imprecisión o inexactitud de un dato obtenido, gracias a la realización de un trabajo analítico dentro de unos parámetros definidos, generando una mayor fiabilidad y aceptación de los datos, al estar en proporción con la calidad del proceso de obtención de los mismos (Ramírez *et al.*, 2009).

La validación de un método analítico comprueba que el procedimiento utilizado cumpla con ciertos criterios que son: exactitud y recuperación, precisión, repetitividad y reproducibilidad, especificidad, límite de detección, límite de cuantificación. (Londoño Carvajal *et al.*, 2010).

Adicionalmente verifica que el método utilizado tenga un alto nivel de confianza al realizar los análisis en el laboratorio, sin embargo los métodos tienen un margen de error propio del analito, el operador y los equipos utilizados, por lo que no se pueden efectuar medidas libres de estos, lo que se hace es minimizarlos y estimar su tamaño con una precisión aceptable. La confianza en los resultados de los análisis en aguas, suelos y sedimentos depende, en gran parte, de los cuidados que se tenga al momento de la toma de muestras, de la forma de conservación y de las capacidades analíticas institucionales para cada uno de los parámetros que se requieran determinar.

Es necesario validar un método ya que millones de pruebas, mediciones y exámenes se hacen cada día en laboratorios, existen innumerables razones por las cuales es importante realizar mediciones analíticas, por ejemplo controlar la calidad de agua potable, suelo, aire, y alimentos, análisis forense de los fluidos corporales en las investigaciones criminales; se puede observar que todos los aspectos de la sociedad se apoyan de algún u otra manera, en el trabajo analítico (Eurachem, 2016). Es importante recalcar que el coste para llevar a cabo estas mediciones es alto ya que pueden surgir costes adicionales en base a las decisiones tomadas a partir de los resultados.

Un método debe ser validado cuando es necesario demostrar que sus características de desempeño son adecuadas para el uso previsto (Eurachem, 2016). El laboratorio debe validar métodos no normalizados; métodos desarrollados por el laboratorio y métodos normalizados usados fuera de su ámbito de aplicación (ISO/IEC 17025). También debe validarse cuando es necesario demostrar la equivalencia de los resultados obtenidos por dos métodos, un método desarrollado recientemente y un método normalizado existente (Eurachem, 2016).

En el caso de esta investigación, se validarán métodos para la determinación de metales en aguas, suelos y sedimentos por medio de los equipos de Espectrofotómetro de Absorción atómica de horno de grafito (GFAAS) y Espectrofotómetro de absorción atómica con llama (EAA).

El límite de detección es la concentración mínima de un analito que se puede detectar confiablemente cuando se aplica un método para el análisis de una muestra, con un nivel de confianza aceptable (Briones, 2005) , para determinar el límite de detección se pueden utilizar varios métodos que dependan del análisis de muestras del blanco y el examen de relación entre la señal y el ruido. El límite de detección es un parámetro sensible pudiendo ser afectado por cambios menores del sistema analítico como por ejemplo la temperatura, pureza de reactivos, o que el equipo no esté debidamente calibrado (Cáñez & García 2015; UNODC, 2010).

El límite de cuantificación es aquella cantidad más pequeña del analito en una muestra, que puede ser cuantitativamente determinada con un nivel de exactitud y precisión aceptable de repetibilidad y veracidad (Briones, 2005), también se define por diversas convenciones como la concentración de analito correspondiente al valor del blanco de muestra más 5,6 ó 10 desviaciones estándar en la media del blanco, en algunos casos también se le conoce como límite de determinación (Cáñez & García, 2015; Eurachem, 2005).

El porcentaje de recuperación es la fracción de analito adicionada a una muestra de prueba, previa al análisis que es determinada efectivamente por el método, es decir, en la concentración obtenida sobre la concentración real multiplicada por el 100% (Cáñez & García, 2015).

La repetibilidad son condiciones en las cuales los resultados se obtienen con el mismo método, en el mismo laboratorio, por el mismo operador, usando el mismo equipo y dentro de tiempo cortos (Eurachem, 2005). El intervalo de confianza nos da el rango donde se podría encontrar el valor verdadero con una probabilidad determinada (NTE INEN ISO 17025, 2006).

El estudio se realizó en la Reserva Biológica de Limoncocha (RBL), ubicada al nororiente de la Región Oriental ecuatoriana, en el cantón Shushufindi, provincia de Sucumbíos. El objetivo de la presente investigación es determinar los límites de detección y apreciación de Cu, Ni, Zn, Cd en aguas, suelos y sedimentos de la RBL para su validación analítica en el período del 2015-2017. Se efectuó la validación analítica por medio del equipo de Espectrofotómetro de Absorción atómica de horno de grafito (GFAAS) y el Espectrofotómetro de absorción atómica con llama (EAA) para el laboratorio de la UISEK de la Facultad de Ciencias Naturales y Ambientales basado en la legislación ecuatoriana, aportando una mayor credibilidad y confiabilidad a la metodología.

Finalmente, al obtener los parámetros mencionados anteriormente dentro de los rangos definidos para la validación, se garantiza la fiabilidad de la línea base establecida por la UISEK para la RBL en los tres componentes ambientales: agua, suelo y sedimento.

Metodología

Materiales

Balones de 50mL, 100mL y 250mL; Vasos de precipitación 250mL, 50mL; Probeta; Estufa; Gotero; Agua ultra pura; Muestras de aguas, suelos y sedimentos de la RBL del 2015-2017.

Equipos

Espectrofotómetro de Absorción atómica de horno de grafito (GFAAS); Espectrofotómetro de absorción atómica con llama (EAA); Cabina extractora de gases.

El equipo AAnalyst 200 de la casa comercial Perkin Elmer® se utilizó en la espectrometría de absorción atómica con llama (EAA) para la validación analítica de metales pesados en la presente investigación (Ver Figura 1).



Figura 1: Espectrofotómetro de absorción atómica con llama

El equipo GeminAA de la casa comercial GBC Scientific Equipment® se utilizó en la espectrometría de absorción atómica de horno de grafito (GFAAS) para el análisis de metales pesados en la presente investigación (Ver Figura 2).



Figura 2: Espectrofotómetro de Absorción atómica de horno de grafito

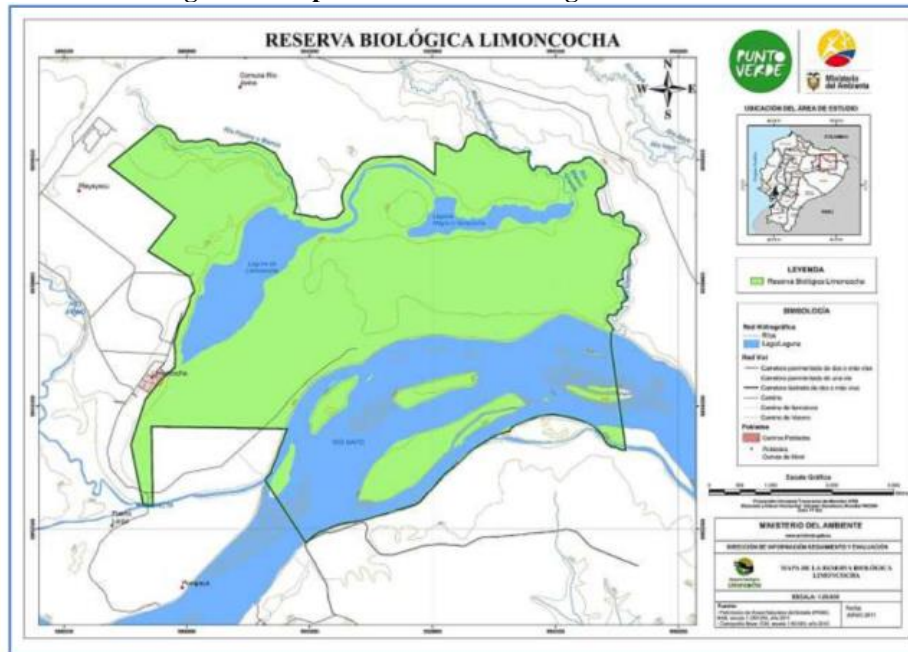
Reactivos

Ácido nítrico HNO_3 ; Ácido clorhídrico HCl ; Agua regia HNO_3+3HCl ; Solución estándar de Cu, Zn, Ni y Cd; Reference Material 8704 para suelos y sedimentos.

Área de estudio

La RBL se encuentra ubicada en la provincia de Sucumbíos, en el nororiente de la Región Oriental, cantón Shushufindi, parroquia Limoncocha, y está compuesta principalmente por la Laguna de Limoncocha, las zonas aledañas y la Laguna Negra, también conocida como Yanacocha (Ecolap & Mae, 2007), la Reserva tiene una extensión 4613,25 hectáreas, una altitud promedio de 230 msnm y corresponde a las coordenadas geográficas 0 22' – 0 27' latitud Sur y 76 33' – 76 37' longitud 5 Oeste. El promedio de temperatura y precipitación anual es de 24.9° C y de 3,065 milímetros respectivamente (Fierro, 2010).

Figura 3: Mapa de la Reserva Biológica Limoncocha



Fuente: (MAE, 2011).

Su ecosistema pertenece al bosque húmedo tropical. Una parte de este bosque corresponde a bosque maduro y tiene áreas temporalmente inundadas. Otro sector está cubierto de bosque secundario y un tercer sector por matorral de pantano temporal o inundable permanente (Armas & Lasso, 2011).

En la Reserva el promedio de precipitación mensual es menor a 183.7 mm en el mes de diciembre y mayor a 325.7 mm en el mes de abril. La temperatura máxima mensual registrada es de 31 °C y la mínima es de 16 °C. La temperatura durante el año es homogénea excepto en el mes de julio, que es el mes más frío. La velocidad del viento es baja y constante durante el año (Fierro, 2010).

La humedad relativa es constante y homogénea (Armas & Lasso, 2011). Dentro de RBL se encuentra la laguna de Limoncocha, la cual posee un espejo de agua de 370 hectáreas, una longitud máxima de 3 kilómetros por 1 kilómetro de ancho y una profundidad de 2.3 metros (Fierro, 2010).

Esta Laguna es muy importante para las comunidades de la Reserva, debido a la actividad pesquera de la población. Se encuentra rodeada de una vegetación acuática, semiacuática y se observa la presencia de abundante alga filamentosa (Fierro, 2010).

Los puntos a considerar en la laguna fueron cinco, de los cuales se tomó muestras de agua y sedimento en cada sitio de la laguna de Limoncocha seleccionados (Ver anexo 1), estos se ubicaron en: 1) entrada al “caño” (zona norte de la laguna) , 2) desembocadura del río Pishira (zona norte de la laguna), 3) desembocadura del río Playayacu (zona norte de la laguna) , 4) zona más profunda de la laguna (zona occidental de la laguna) y 5) el Muelle (zona sur oeste de la laguna) (Cerón, 2016).

En cuanto a los puntos de muestreo a considerar cerca de la laguna fueron tres ubicados en: 6) Río Napo (zona sur en referencia a la laguna), 7) Pishira (zona norte en referencia a laguna) y 8) Playayacu (zona norte en referencia a laguna). Los sitios fueron geo posicionados mediante un GPS marca Garmin (Cerón, 2016).

Los puntos escogidos para el muestreo de suelos fueron seis puntos los cuales son 1) Pozo antigua, 2) Pozo Laguna, 3) Pozo Jivino B, 4) Instituto, 5) la estación científica de la RBL y como 6) blanco un punto en el sendero “El Caimán”

Métodos de laboratorio

Para realizar la digestión de las muestras de aguas y la muestra “blanco” se utilizó el procedimiento Estándar Methods: 3030E: Nitric Acid Digestion of Metals. Por otro lado para suelos y sedimentos se utilizó el procedimiento EPA 3050 “Acid Digestion of sediments, Sludges and Soils”(APA AWA WEF, 2005)

En la presente investigación se analizaron los cuatro metales mediante los métodos de espectrofotometría de absorción atómica de horno de grafito (GFAAS) y espectrometría de absorción atómica con llama (EAA). Para aplicar dichos métodos, todas las muestras deben

estar en forma líquida, es decir con su respectivo pretratamiento, en este caso las muestras ya estaban disponibles con su respectivo pretratamiento.

Para el correcto desarrollo de la validación analítica fue necesario seguir el siguiente procedimiento: Se inició con la preparación de la curva de calibración a partir de estándares certificados, con su respectiva concentración en ppm en el equipo de absorción atómica con llama (EAA) adicionalmente se prepara un estándar extra con un valor intermedio a los obtenidos anteriormente, a continuación se elige una muestra problema de agua, suelo y sedimento tomadas en la RBL que tenga la concentración analizada por duplicado, como material de referencia interno. Por último se mide la muestra problema y la muestra intermedia 5 veces, en diferentes horas y por dos diferentes operadores, obteniendo 10 datos (pseudoréplicas) de aguas, suelos y sedimentos respectivamente.

También se realizó la validación analítica con Material de Referencia Certificado (Reference Material 8704 para suelos y sedimentos) a un nivel de concentración, aplicando la misma metodología que se utiliza para validar la muestra problema y el estándar extra.

Es importante recalcar que en el proceso de validación analítica, la determinación de los análisis y los parámetros de desempeño se realizaron utilizando equipos que trabajan correctamente y que están calibrados de manera adecuada por los fabricantes, el operador que realizó los estudios fue adecuadamente capacitado, siendo técnicamente competente en el campo en el que se trabajó, adicionalmente disponía del conocimiento sobre el trabajo que realizado con la capacidad de tomar decisiones correctas a partir de las observaciones hechas mientras avanzaba el estudio (Eurachem, 2005).

Parámetros analíticos de calidad para la validación del método

El límite de detección (LD) se calculó a partir de los resultados obtenidos del blanco, convertidos a resultado final sobre la muestra, desde el valor final el método de ensayo es capaz de detectar el analito (NTE INEN ISO, 2006).

Ecuación 1: Cálculo para la determinación del límite de detección

$$LD_{experimental} = X_{media} + 3DES_{V estándar}$$

El límite de cuantificación (LC) se calculó a partir de los resultados obtenidos del blanco, convertidos a resultado final sobre la muestra, valor desde el cual el método de ensayo es capaz de detectar el analito de manera cuantitativa, donde cumple elementos de precisión y exactitud (NTE INEN ISO 17025, 2006).

Ecuación 2: Cálculo para la determinación del límite de cuantificación

$$LC_{experimental} = X_{media} + 10DES_{V estándar}$$

El porcentaje de recuperación es el cociente entre la cantidad de mensurando encontrada y el contenido que presenta el material de referencia (Briones, 2005).

Ecuación 3: Cálculo para la determinación del porcentaje de recuperación

$$\% REC = \frac{(Valor experimental)}{(Valor teórico)} * 100\%$$

Precisión se determinó bajo condiciones de repetibilidad donde los resultados de ensayos independientes se obtienen con el mismo método en idénticas muestras de ensayo, en el mismo laboratorio, por el mismo analista usando el mismo equipo en intervalos de tiempo cortos (NTE INEN ISO 17025, 2006).

Ecuación 4: Cálculo para la determinación de la repetibilidad

$$Repetibilidad = \frac{Smuestra}{Media} * 100\%$$

El intervalo de confianza (IC) proporciona el rango donde se encuentra el valor verdadero, con una probabilidad determinada (NTE INEN ISO, 2006).

Ecuación 5: Cálculo para la determinación del intervalo de confianza

$$IC = +/- T_{student}(95\%) * Smuestra$$

Parámetros de validación y fijación de objetivos para Cu, Ni, Zn y Cd

Los objetivos de validación se establecieron en función de los siguientes criterios, en el caso del % recuperación, la adición de una muestra de concentración conocida a un valor estándar de analito, en vista de las limitaciones propias de la Universidad y por ser el primer ejercicio de validación que se realiza, se ha colocado un valor de aceptabilidad de +/- 10%.

El límite de detección se ha establecido en función de los valores máximos permitidos por la Normativa Ecuatoriana para el caso de Cu en aguas, el Acuerdo Ministerial 097 A tabla 2 indica un valor máximo de 0,005 mg/L por lo cual se establece como límite de detección un valor inferior al 50% es decir 0,0025 mg/L igualmente se trabajó con el límite de cuantificación, en este caso se estableció el valor del límite máximo permisible establecido en el AM 097 A. En suelos el Acuerdo Ministerial 097 A tabla 1 indica un valor máximo de 25 mg/kg.

Para Zn en aguas el Acuerdo Ministerial 097 A tabla 2 indica un valor máximo de 0,03 mg/L por lo cual se estableció como límite de detección, un valor inferior al 50% es decir 0,015 mg/L, para el límite de cuantificación de igual forma se estableció el valor del límite máximo permisible establecido en el AM 097 A.

Para Ni en aguas el Acuerdo Ministerial 097 A tabla 2 indica un valor máximo de 0,025 mg/L por lo cual se estableció como límite de detección 0,15 mg/L, para el límite de cuantificación de igual forma se estableció el valor del límite máximo permisible establecido en el AM 097 A. En suelos el Acuerdo Ministerial 097 A tabla 1 indica un valor máximo de 19 mg/kg.

Para Cd en aguas el Acuerdo Ministerial 097 A tabla 2 indica un valor máximo de 0,001 mg/L por lo cual se estableció como límite de detección 0,002 mg/L, para el límite de cuantificación de igual forma se estableció el valor del límite máximo permisible establecido en el AM 097 A. En suelos el Acuerdo Ministerial 097 A tabla 1 indica un valor máximo de 0.5 mg/kg.

Para la repetibilidad y tomando en cuenta la escasa experiencia analítica de los investigadores se ha optado por establecer un objetivo amplio esto es un 20% de confiabilidad en tanto que el intervalo de confianza se lo ha igualado a límite de detección.

Para aguas y suelos se aplica la normativa ecuatoriana, por otro lado, en el caso de los sedimentos se decidió trabajar con la media de la Normativa Internacional debido a que en el Ecuador no existe normativa aplicable para sedimentos.

Tabla 4: Parámetros de validación y fijación de objetivos de cobre

CU AGUAS:		AM 097 Aguas Tabla 2	
% RECUPERACIÓN :	90-110	Cu (mg/L)	0,005
LÍMITE DE DETECCIÓN:	< 0.0025		
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN:	< 0.005		
REPETIBILIDAD	>80 %		
INTERVALO DE CONFIANZA	+/- 0,025		
CU SUELOS:			
% RECUPERACIÓN :	90-110	Cu (mg/kg)	25
LÍMITE DE DETECCIÓN:	< 1		
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN:	< 25		
REPETIBILIDAD	>80 %		
INTERVALO DE CONFIANZA	+/- 1		
CU SEDIMENTOS:			
% RECUPERACIÓN :	90-110	Cu (mg/kg)	31.856
LÍMITE DE DETECCIÓN:	< 1	Desviación estándar	3.844
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN:	< 74		
REPETIBILIDAD	>80 %		
INTERVALO DE CONFIANZA	+/- 1		

Fuente: Autor, Acuerdo Ministerial 097 A, EPA, Normativa Canadá CCME

Tabla 5: Parámetros de validación y fijación de objetivos de zinc

Zn AGUAS:		AM 097 Aguas Tabla 2	
% RECUPERACIÓN :	90-110	Zn (mg/L)	0,03
LÍMITE DE DETECCIÓN:	< 0.15		
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN:	< 0.03		
REPETIBILIDAD	>80 %		
INTERVALO DE CONFIANZA	+/- 0,15		
Zn SUELOS:			
% RECUPERACIÓN :	90-110	Zn (mg/kg)	60
LÍMITE DE DETECCIÓN:	< 10		
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN:	< 60		
REPETIBILIDAD	>80 %		
INTERVALO DE CONFIANZA	+/- 1		
MATERIAL DE REFERENCIA (mg/kg)	+/- 408		
Zn SEDIMENTOS:		Media Normativa Internacional	
% RECUPERACIÓN :	90-110	Zn (mg/kg)	110.5
LÍMITE DE DETECCIÓN:	< 1	Desviación estándar	12.500
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN:	< 157		
REPETIBILIDAD	>80 %		
INTERVALO DE CONFIANZA	+/- 1		

MATERIAL DE REFERENCIA (mg/kg)	+/- 408	
--------------------------------	---------	--

Fuente: Autor, Acuerdo Ministerial 097 A, EPA, Normativa Canadá CCME

Tabla 6: Parámetros de validación y fijación de objetivos de níquel

Ni AGUAS:		AM 097 Aguas Tabla 2	
% RECUPERACIÓN :	90-110	Ni (mg/L)	0,025
LÍMITE DE DETECCIÓN:	< 0.15		
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN:	< 0.025		
REPETIBILIDAD	>80 %		
INTERVALO DE CONFIANZA	+/- 0,02		
Ni SUELOS:		AM 097 Suelos Tabla 1	
% RECUPERACIÓN :	90-110	Ni (mg/kg)	19
LÍMITE DE DETECCIÓN:	< 1		
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN:	< 19		
REPETIBILIDAD	>80 %		
INTERVALO DE CONFIANZA	+/- 1		
MATERIAL DE REFERENCIA (mg/kg)	+/- 42.9		
Ni SEDIMENTOS:		Media Normativa Internacional	
% RECUPERACIÓN :	90-110	Ni (mg/kg)	9.757
LÍMITE DE DETECCIÓN:	< 1	Desviación estándar	13.798
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN:	< 10		
REPETIBILIDAD	>80 %		
INTERVALO DE CONFIANZA	+/- 1		
MATERIAL DE REFERENCIA (mg/kg)	+/- 42.9		

Fuente: Autor, Acuerdo Ministerial 097 A, EPA, Normativa Canadá CCME

Tabla 7: Parámetros de validación y fijación de objetivos de cadmio

Cd AGUAS:		AM 097 Aguas Tabla 2	
% RECUPERACIÓN :	90-110	Cd (mg/L)	0.001
LÍMITE DE DETECCIÓN:	< 0.002		
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN:	< 0.001		
REPETIBILIDAD	>80 %		
INTERVALO DE CONFIANZA	+/- 0.002		
Cd SUELOS:		AM 097 Suelos Tabla 1	
% RECUPERACIÓN :	90-110	Cd (mg/kg)	0.5
LÍMITE DE DETECCIÓN:	< 0.25		
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN:	< 0.5		
REPETIBILIDAD	>80 %		
INTERVALO DE CONFIANZA	+/- 0.25		
MATERIAL DE REFERENCIA (mg/kg)	+/- 2.94		
Cd SEDIMENTOS:		Media Normativa Internacional	
% RECUPERACIÓN :	90-110	Cd (mg/kg)	583
LÍMITE DE DETECCIÓN:	< 1	Desviación estándar	336.595
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN:	< 10		
REPETIBILIDAD	>80 %		
INTERVALO DE CONFIANZA	+/- 1		
MATERIAL DE REFERENCIA (mg/kg)	+/- 2.94		

Resultados y discusiones

Discusión general

Se utilizó agua ultra pura para el lavado de materiales y la determinación de metales en los equipos de espectrofotómetro de Absorción atómica de horno de grafito y espectrofotómetro de absorción atómica con llama, razón por la cual, el agua de tipo I está libre de metales y con una conductividad eléctrica de $0.056 \mu S/cm$ gracias a tratamientos de intercambio iónico y ósmosis inversa que poseen los equipos del laboratorio de la Universidad Internacional SEK.

Para la determinación del intervalo de confianza se utilizó procesos estadísticos (ANOVA “t” de student) con un rango de confiabilidad del 95%, adicionalmente se realizó el análisis de la muestra problema, estándar extra y la preparación del material de referencia interno, teniendo una calibración previa del equipo de absorción atómica, debido a que una mala calibración ocasiona resultados erróneos en la validación analítica.

Para la preparación de material de referencia se utilizó el procedimiento Estándar Methods: 3030E: Nitric Acid Digestion of Metals para aguas y EPA 3050 “Acid Digestion of sediments, Sludges and Soils” para suelos y sedimentos, utilizando una solución de ácido nítrico al 3% o al 5% ya que al momento de realizar los análisis no altera el resultado.

Debido a que no se contó con el valor real del metal cobre en suelos y sedimentos del Material de Referencia Certificado se optó por no determinar el % de recuperación para este caso, ya que para determinar este parámetro se necesita el valor obtenido en el equipo y el valor real del material de referencia.

El espectrofotómetro de absorción atómica con llama es un equipo que tiene un ruido relativo de 1 adimensional y de acuerdo al análisis instrumental el valor de ruido relativo menor a 2 no altera las mediciones de los análisis.

El equipo da los resultados en mg/L y no en mg/kg ya sea aguas o suelos, razón por la cual, se realizó una transformación matemática utilizando el peso de la muestra inicial y el volumen aforado.

Discusión sobre la determinación de Cu en aguas

En el caso de Cu en aguas se realizó la validación en el intervalo de trabajo de: 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 mg/L, obteniendo la curva de calibración con un coeficiente de correlación de la linealidad igual a 0,9895; la ecuación que se utilizó fue $y = 0,0402x$ donde y es el volumen medido, x es la concentración obtenida (Ver figura 4). Se cumplió la validación analítica en el rango de 1,0 a 4,0 mg/L consiguiéndose una recuperación del 102,360% estando en el rango del 90 al 110%, un límite de detección igual a 0,003 mg/L, un límite de cuantificación igual a 0,005 mg/L, una repetibilidad del 85% siendo lo permitido >80 %, finalmente con un intervalo de confianza de +/- 0,003 (Ver tabla 4).

Discusión sobre la determinación de Cu en suelos

En el caso de Cu en suelos, se realizó la validación en el intervalo de trabajo de: 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 mg/kg, obteniendo la curva de calibración con un coeficiente de correlación de la linealidad igual a 0,9895; la ecuación que se utilizó fue $y = 0,0402x$ donde: y es el volumen medido; x es la concentración obtenida (Ver figura 4). Se cumplió la validación analítica en el rango de 1,0 a 4,0 mg/kg consiguiéndose una recuperación del 102,360% estando en el rango del 90 al 110%, un límite de detección igual a 0,003 mg/kg, un límite de cuantificación igual a 0,005 mg/kg, una repetibilidad del 98% siendo lo permitido >80 %, finalmente con un intervalo de confianza de +/- 0,457 (Ver tabla 4).

Discusión sobre la determinación de Cu en sedimentos

En el caso de Cu en sedimentos se realizó la validación en el intervalo de trabajo de: 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 mg/kg, obteniendo la curva de calibración con un coeficiente de correlación de la linealidad igual a 0,9895; la ecuación que se utilizó fue $y = 0,0402x$ donde: y es el volumen

medido; x es la concentración obtenida (Ver figura 4). Se cumplió la validación analítica en el rango de 1,0 a 4,0 mg/kg consiguiéndose una recuperación del 102,360% estando en el rango del 90 al 110%, un límite de detección igual a 0,003 mg/kg, un límite de cuantificación igual a 0,005 mg/kg, una repetibilidad del 97% siendo lo permitido >80 %, finalmente con un intervalo de confianza de +/- 0,773 (Ver tabla 4).

Tabla 8: Datos primarios para validación de Cobre en aguas, suelos y sedimentos

FECHA	MUESTRA PROBLEMA			ESTANDAR (1,5mg/L) – (1,5 mg/kg)	BLANCO
	AGUA (mg/l)	SUELO (mg del metal/kg del suelo)	SEDIMENTOS (mg del metal/kg del suelo)		
17/03/2017	0,024	41,400	51,000	1,524	0,001
17/03/2017	0,030	40,600	52,000	1,562	0,002
20/03/2017	0,039	42,200	52,200	1,538	0,002
20/03/2017	0,040	42,800	52,900	1,598	0,002
23/03/2017	0,041	43,000	50,800	1,424	0,002
23/03/2017	0,037	41,200	52,100	1,391	0,002
24/03/2017	0,030	42,200	53,500	1,591	0,002
24/03/2017	0,035	41,800	52,100	1,576	0,002
29/03/2017	0,033	42,500	53,600	1,575	0,002
29/03/2017	0,037	42,800	55,300	1,575	0,002

Fuente: Autor

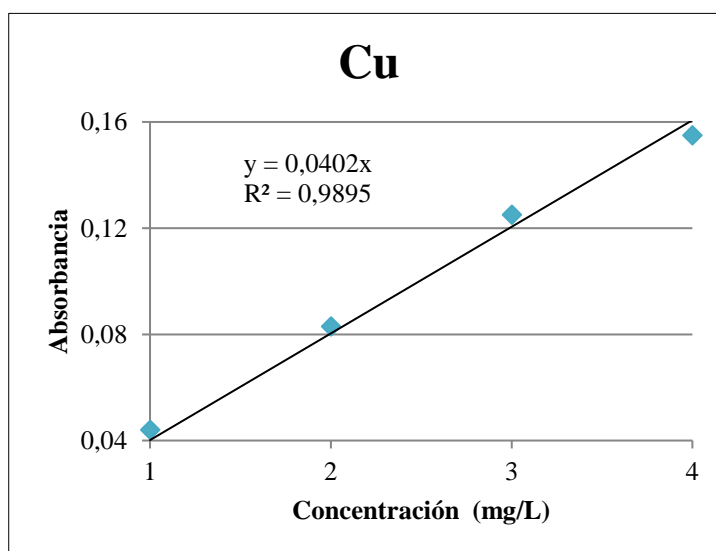


Figura 4: Curva de calibración para Cu

Tabla 9: Resultados de validación de Cobre en aguas, suelos y sedimentos

PARAMETROS	RESULTADOS		
	AGUAS	SUELOS	SEDIMENTOS
LIMITE DETECCION	0,003	0,003	0,003
LIMITE CUANTIFICACION	0,005	0,005	0,005

INTERVALO DE CONFIANZA	+/- 0,003	+/- 0,457	+/- 0,773
EXACTITUD			
a. RECUPERACION ESTÁNDAR	102,360	102,360	102,360
b. RECUPERACION MATERIAL DE REFERENCIA		-	-
PRECISION			
c. REPETIBILIDAD	85	98	97
d. COEFICIENTE DE VERACIDAD	15,486	1,873	2,536

Fuente: Autor

Discusión sobre la determinación de Zn en aguas

En el caso de Zn en aguas se realizó la validación en el intervalo de trabajo de: 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/L, obteniendo la curva de calibración con un coeficiente de correlación de la linealidad igual a 0,988; la ecuación que se utilizó fue $y = 0,1144x + 0,0272$ donde: y es el volumen medido; x es la concentración obtenida (Ver figura 5). Se cumplió la validación analítica en el rango de 0,5 a 2,0 m/L consiguiéndose una recuperación del 105,314% estando en el rango del 90 al 110%, un límite de detección igual a 0,026 mg/L, un límite de cuantificación igual a 0,030 mg/L, una repetibilidad del 93% siendo lo permitido >80 %, finalmente con un intervalo de confianza de +/- 0,018 (Ver tabla 5).

Discusión sobre la determinación de Zn en suelos

En el caso de Zn en suelos se realizó la validación en el intervalo de trabajo de: 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/L, obteniendo la curva de calibración con un coeficiente de correlación de la linealidad igual a 0,9881; la ecuación que se utilizó fue $y = 0,1144x + 0,0272$ donde: y es el volumen medido; x es la concentración obtenida (Ver figura 5). Se cumplió la validación analítica en el rango de 0,5 a 2,0 m/L consiguiéndose una recuperación del 105,314% estando en el rango del 90 al 110%, un límite de detección igual a 0,026 mg/L, un límite de cuantificación igual a 0,030 mg/L, una repetibilidad del 99% siendo lo permitido >80 %, finalmente con un intervalo de confianza de +/- 0,244 (Ver tabla 5).

Discusión sobre la determinación de Zn en sedimentos

En el caso de Zn en sedimentos se realizó la validación en el intervalo de trabajo de: 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/L, obteniendo la curva de calibración con un coeficiente de correlación de

la linealidad igual a 0,9881; la ecuación que se utilizó fue $y = 0,1144x + 0,0272$ donde: y es el volumen medido; x es la concentración obtenida (Ver figura 5). Se cumplió la validación analítica en el rango de 0,5 a 2,0 mg/L consiguiéndose una recuperación del 105,314% estando en el rango del 90 al 110%, un límite de detección igual a 0,026 mg/L, un límite de cuantificación igual a 0,030 mg/L, una repetibilidad del 99% siendo lo permitido >80 %, finalmente con un intervalo de confianza de +/- 0,558 (Ver tabla 5).

Los resultados del Reference Material 8704 en suelos y sedimentos de zinc, se obtuvo un % de recuperación de 109.93% encontrándose este valor dentro de los objetivos de validación propuestos que son del 90 al 110%. El valor real del material de referencia fue 408 (mg/kg) +/- 15 (mg/kg) y el espectrofotómetro de absorción atómica con llama determinó un valor promedio de +/- 448.510 (mg/kg).

Tabla 10: Datos primarios para validación de Zinc en aguas, suelos y sedimentos

FECHA	MUESTRA PROBLEMA			ESTANDAR (0,7 mg/L) - (0,7 mg/kg)	BLANCO
	AGUA (mg/l)	SUELO (mg del metal/kg del suelo)	SEDIMENTOS (mg del metal/kg del suelo)		
25/04/2017	0,489	46,100	98,000	0,767	0,024
25/04/2017	0,462	46,100	99,300	0,779	0,025
26/04/2017	0,478	45,900	99,700	0,743	0,025
26/04/2017	0,476	45,300	99,800	0,750	0,024
27/04/2017	0,402	45,800	98,100	0,750	0,025
27/04/2017	0,425	45,700	97,000	0,701	0,024
28/04/2017	0,414	46,100	97,800	0,709	0,025
28/04/2017	0,427	45,700	97,800	0,707	0,024
29/04/2017	0,456	46,200	99,100	0,729	0,025
29/04/2017	0,468	46,900	99,300	0,737	0,024

Fuente: Autor

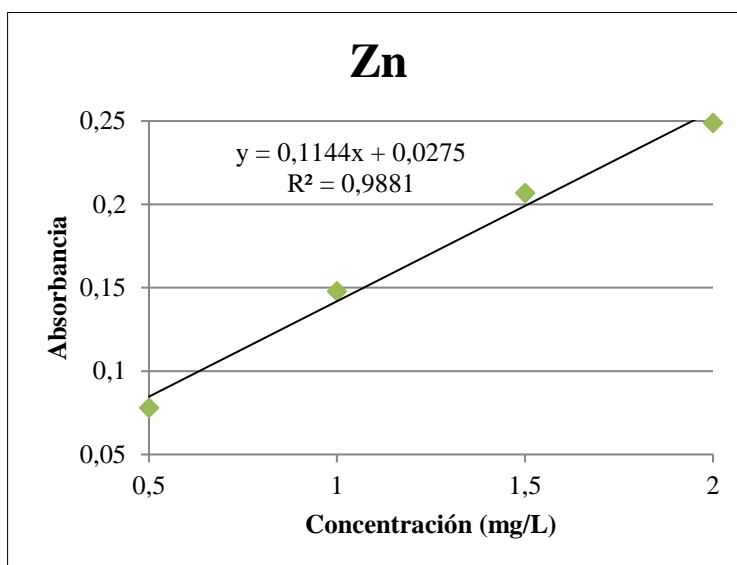


Figura 5: Curva de calibración para Zn

Tabla 11: Resultados de validación de Zinc en aguas, suelos y sedimentos

PARAMETROS	RESULTADO		
	AGUAS	SUELOS	SEDIMENTOS
LIMITE DETECCION	0,026	0,026	0,026
LIMITE CUANTIFICACION	0,030	0,030	0,030
INTERVALO DE CONFIANZA	+/- 0,018	+/- 0,244	+/- 0,558
EXACTITUD			
a. RECUPERACION ESTÁNDAR	105,314	105,314	105,314
b. RECUPERACION MATERIAL DE REFERENCIA	-	109,93	109,93
PRECISION			
c. REPETIBILIDAD	93	99	99
d. COEFICIENTE DE VERACIDAD	6,728	0,916	0,976

Fuente: Autor

Discusión sobre la determinación de Ni en aguas

En el caso de Ni en aguas se realizó la validación en el intervalo de trabajo de: 5,0; 10,0; 15,0; 20,0 mg/L, obteniendo la curva de calibración con un coeficiente de correlación de la linealidad igual a 0,9905; la ecuación que se utilizó fue $y = 0,016x + 0,03$ donde: y es el volumen medido; x es la concentración obtenida (Ver figura 6). Se cumplió la validación analítica en el rango de 5,0 a 20,0 mg/L consiguiéndose una recuperación del 92,025% estando en el rango del 90 al 110%, un límite de detección igual a 0,024 mg/L, un límite de

cuantificación igual a 0,028 mg/L, una repetibilidad del 92% siendo lo permitido >80 %, finalmente con un intervalo de confianza de +/- 0,010 (Ver tabla 6).

Discusión sobre la determinación de Ni en suelos

En el caso de Ni en suelos se realizó la validación en el intervalo de trabajo de: 5,0; 10,0; 15,0; 20,0 mg/kg, obteniendo la curva de calibración con un coeficiente de correlación de la linealidad igual a 0,9905; la ecuación que se utilizó fue $y = 0,016x + 0,03$ donde: y es el volumen medido; x es la concentración obtenida (Ver figura 6). Se cumplió la validación analítica en el rango de 5,0 a 20,0 mg/L consiguiéndose una recuperación del 92,025% estando en el rango del 90 al 110%, un límite de detección igual a 0,024 mg/L, un límite de cuantificación igual a 0,028 mg/L, una repetibilidad del 97% siendo lo permitido >80 %, finalmente con un intervalo de confianza de +/- 0,219 (Ver tabla 6).

Discusión sobre la determinación de Ni en sedimentos

En el caso de Ni en sedimentos se realizó la validación en el intervalo de trabajo de: 5,0; 10,0; 15,0; 20,0 mg/kg, obteniendo la curva de calibración con un coeficiente de correlación de la linealidad igual a 0,9905; la ecuación que se utilizó fue $y = 0,016x + 0,03$ donde: y es el volumen medido; x es la concentración obtenida (Ver figura 6). Se cumplió la validación analítica en el rango de 5,0 a 20,0 mg/L consiguiéndose una recuperación del 92,025% estando en el rango del 90 al 110%, un límite de detección igual a 0,024 mg/L, un límite de cuantificación igual a 0,028 mg/L, una repetibilidad del 97% siendo lo permitido >80 %, finalmente con un intervalo de confianza de +/- 0,423 (Ver tabla 6).

Los resultados del Reference Material 8704 en suelos y sedimentos de níquel, se obtuvo un % de recuperación de 100,513% encontrándose este valor dentro de los objetivos de validación propuestos que son del 90 al 110%. El valor real del material de referencia es 42,9 (mg/kg) +/- 3,7 (mg/kg) y el espectrofotómetro de absorción atómica con llama determinó un valor promedio de +/- 43,12 (mg/kg).

Tabla 12: Datos primarios para validación de Níquel en aguas, suelos y sedimentos

FECHA	MUESTRA PROBLEMA			ESTANDAR	BLANCO
				(12 mg/L) - (12 mg/kg)	
	AGUA (mg/l)	SUELO (mg del metal/kg del suelo)	SEDIMENTOS (mg del metal/kg del suelo)		
23/06/2017	0.085	11.900	22.500	12.988	0.023
23/06/2017	0.092	11.100	22.500	12.893	0.023
26/06/2017	0.092	11.300	22.700	12.913	0.022
26/06/2017	0.092	11.100	21.200	12.737	0.023
27/06/2017	0.072	11.200	21.600	12.891	0.022
27/06/2017	0.079	11.900	22.700	12.989	0.023
28/06/2017	0.087	11.900	21.100	12.856	0.022
28/06/2017	0.076	11.900	23.400	12.847	0.023
29/06/2017	0.081	11.100	22.400	12.831	0.023
29/06/2017	0.081	11.300	22.500	12.890	0.022

Fuente: Autor

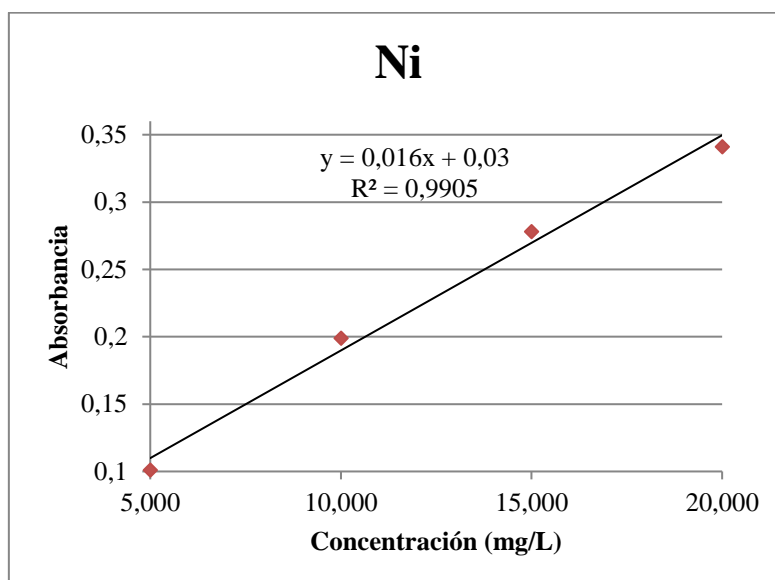


Figura 6: Curva de calibración para Ni

Tabla 13: Resultados de validación de Níquel en aguas, suelos y sedimentos

PARAMETROS	RESULTADO		
	AGUAS	SUELOS	SEDIMENTOS
LIMITE DETECCION	0.024	0.024	0.024
LIMITE CUANTIFICACION	0.028	0.028	0.028
INTERVALO DE CONFIANZA	0.010	0.219	0.423
EXACTITUD			
a. RECUPERACION ESTÁNDAR	92.025	92.025	92.025
b. RECUPERACION MATERIAL DE REFERENCIA	-	100.513	100.513
PRECISION			
c. REPETIBILIDAD	92	97	97
d. COEFICIENTE DE VERACIDAD	8.468	3.289	3.275

Fuente: Autor

Discusión sobre la determinación de Cd en aguas

En el caso de Cd en aguas se realizó la validación en el intervalo de trabajo de: 5,0; 10,0; 15,0; 20,0 mg/L, obteniendo la curva de calibración con un coeficiente de correlación de la linealidad igual a 0,9995; la ecuación que se utilizó fue $y = 0.0122x + 0.0965$ donde: y es el volumen medido; x es la concentración obtenida (Ver figura 7). Se cumplió la validación analítica en el rango de 5,0 a 20,0 mg/L consiguiéndose una recuperación del 104.083% estando en el rango del 90 al 110%, un límite de detección igual a 0,001 mg/L, un límite de cuantificación igual a 0,002 mg/L, una repetibilidad del 84% siendo lo permitido >80 %, finalmente con un intervalo de confianza de +/- 0,004 (Ver tabla 7).

Discusión sobre la determinación de Cd en suelos

En el caso de Cd en suelos se realizó la validación en el intervalo de trabajo de: 5,0; 10,0; 15,0; 20,0 mg/kg, obteniendo la curva de calibración con un coeficiente de correlación de la linealidad igual a 0,9995; la ecuación que se utilizó fue $y = 0.0122x + 0.0965$ donde: y es el volumen medido; x es la concentración obtenida (Ver figura 7). Se cumplió la validación analítica en el rango de 5,0 a 20,0 mg/kg consiguiéndose una recuperación del 104.083% estando en el rango del 90 al 110%, un límite de detección igual a 0,001 mg/L, un límite de cuantificación igual a 0,002 mg/L, una repetibilidad del 100% siendo lo permitido >80 %, finalmente con un intervalo de confianza de +/- 0,409 (Ver tabla 7).

Discusión sobre la determinación de Cd en sedimentos

En el caso de Cd en sedimentos se realizó la validación en el intervalo de trabajo de: 5,0; 10,0; 15,0; 20,0 mg/kg, obteniendo la curva de calibración con un coeficiente de correlación de la linealidad igual a 0,9995; la ecuación que se utilizó fue $y = 0.0122x + 0.0965$ donde: y es el volumen medido; x es la concentración obtenida (Ver figura 7). Se cumplió la validación analítica en el rango de 5,0 a 20,0 mg/kg consiguiéndose una recuperación del

104.083% estando en el rango del 90 al 110%, un límite de detección igual a 0,001 mg/L, un límite de cuantificación igual a 0,002 mg/L, una repetibilidad del 100% siendo lo permitido >80 %, finalmente con un intervalo de confianza de +/- 0,837 (Ver tabla 7).

Los resultados del Reference Material 8704 en suelos y sedimentos de cadmio, se obtuvo un % de recuperación de 102,381% encontrándose este valor dentro de los objetivos de validación propuestos que son del 90 al 110%. El valor real del material de referencia es 2.94 (mg/kg) +/- 0.29 (mg/kg) y el espectrofotómetro de absorción atómica con llama determinó un valor promedio de +/- 3.010(mg/kg).

Tabla 14: Datos primarios para validación de Cadmio en aguas, suelos y sedimentos

FECHA	MUESTRA PROBLEMA			ESTANDAR	BLANCO
				(12 mg/L) - (12 mg/kg)	
	AGUA (mg/l)	SUELO (mg del metal/kg del suelo)	SEDIMENTOS (mg del metal/kg del suelo)		
10/07/2017	0.037	765.200	965.800	12.568	0.023
10/07/2017	0.025	766.100	965.200	12.513	0.018
11/07/2017	0.032	765.400	968.500	12.513	0.025
11/07/2017	0.033	764.500	966.100	12.457	0.035
12/07/2017	0.038	764.500	965.800	12.491	0.022
12/07/2017	0.049	766.500	964.700	12.389	0.037
13/07/2017	0.054	765.800	968.400	12.516	0.025
13/07/2017	0.037	764.400	965.700	12.447	0.022
14/07/2017	0.048	765.100	965.800	12.471	0.020
14/07/2017	0.046	765.400	968.500	12.547	0.031

Fuente: Autor

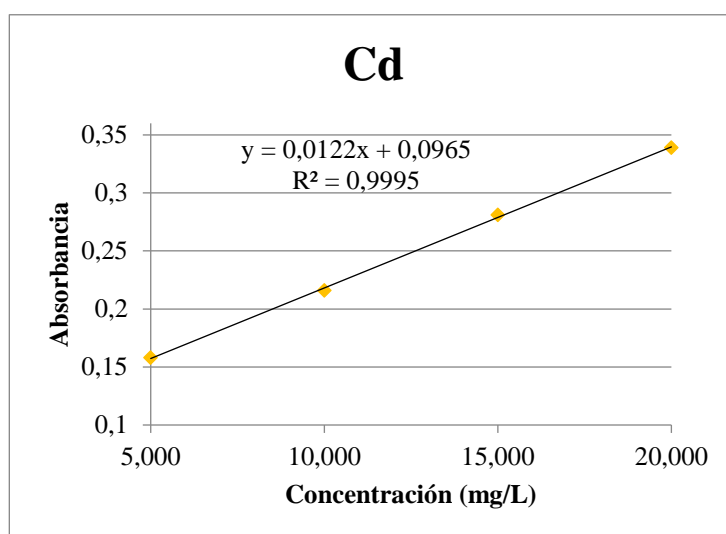


Figura 6: Curva de calibración para Cd

Tabla 15: Resultados de validación de Cadmio en aguas, suelos y sedimentos

PARAMETROS	RESULTADO		
	AGUAS	SUELOS	SEDIMENTOS
LIMITE DETECCION	0.045	0.045	0.045
LIMITE CUANTIFICACION	0.090	0.090	0.090
INTERVALO DE CONFIANZA	0.004	0.409	0.837
EXACTITUD			
a. RECUPERACION ESTÁNDAR	104.083	104.083	104.083
b. RECUPERACION MATERIAL DE REFERENCIA	-	102.381	102.381
PRECISION			
c. REPETIBILIDAD	84	100	100
d. COEFICIENTE DE VERACIDAD	16.369	0.092	0.149

Fuente: Autor

Conclusiones

Se determinó efectivamente los parámetros requeridos para una validación analítica exitosa de cobre, cadmio, zinc, y níquel en aguas suelos y sedimentos, se logró cumplir con los objetivos de validación establecidos (ver tabla 2, 3, 4 y 5), adicionalmente se verificó que es un análisis confiable y con una especificación de exactitud en base a la normativa ecuatoriana en este caso el Acuerdo Ministerial 097a Anexo 1 y Anexo 2.

En el caso del cadmio en aguas no se cumplió con los objetivos establecidos, en los siguientes parámetros: límite de detección y límite de cuantificación debido a que el equipo

Espectrofotómetro de absorción atómica con llama (EAA) midió valores de +/- 0.026 mg/L y la normativa establece valores inferiores a 0.001 mg/L.

Las metodologías establecidas formarán parte del manual de calidad del laboratorio de la Universidad Internacional SEK, los mismos que serán utilizados para las investigaciones para poder realizar un análisis confiable de la concentración de cada metal en muestras reales de Cu, Ni, Zn y Cd en aguas suelos y sedimentos.

Se determinó el % de recuperación del Reference Material 8704 para cadmio, zinc, níquel en suelos y sedimentos, se puede concluir que se logró una validación exitosa al obtener valores dentro del rango de los objetivos planteados. En el caso del cobre no se contó con el valor real suelos y sedimentos del Material de Referencia Certificado, debido a esto, no se determinó el % de recuperación.

En la presente investigación se trabajó con un margen de error +/- 10% en el caso del % de recuperación y el 20% para la repetibilidad debido a que es el primera ejercicio de validación que se realiza en la universidad, por la escasa experiencia analítica de los investigadores y por las limitaciones propias de la universidad.

Gracias a la validación de los métodos antes descritos se desarrolló una metodología más precisa para la determinación de metales pesados ya sean en aguas, suelos o sedimentos, con lo cual se demostró que los métodos cumplen con los criterios de aceptación propuestos en los objetivos, adicionalmente se comprobó que los métodos emiten resultados confiables.

Referencias bibliográficas

APA AWA WEF, S. M. (2005). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater Part 1000 Standard Methods for the Examination of Water and*

- Wastewater*. (A. Eaton, L. Clesceri, E. Rice, & A. Greenberg., Eds)(21st ed). AECOSAN. (2009). Metales pesados. *Inno-Vita*, 1(1), 1–4.
- Agurto, D. (2016). *Evaluación de la concentración de mercurio, aluminio y cobre en aguas, suelos y sedimentos de la reserva biológica de limoncocha para establecer la línea base 2015-2016*. Universidad Internacional SEK.
- Armas, M; Lasso, S. (2011). *Plan de manejo de la reserva biológica de limoncocha*. Quito - Ecuador.
- ATSDR. (1999). Cadmio. *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*, 2, 2.
- Bautista, F. (1999). Introducción al estudio de la contaminación del suelo por metales pesados., (January 1999), 1–31.
- Bravo, E. (2007). Los impactos de la explotación petrolera en ecosistemas tropicales y la biodiversidad. *Fronteras Comunes Y Asociación Ecológica Santo Tomás*, 1(1), 1–36. Retrieved from www.mexicotoxico.org
- Briones, M. (2005). Validación de métodos analíticos para la determinación De Alcalinidad , Dureza , Fósforo , En Aguas Residuales , En El laboratorios de EISMASTER CIA LTDA. *Ecosistemas*, 1–11.
- Cáñez-Carrasco, M. G., & García-Alegría, A. M. (2015). Validación De Un Método Analítico Para La Determinación De Fósforo Por Espectrofotometría Ultravioleta-Visible. *BIOTecnia*, 17(1), 1–32. <https://doi.org/10.18633/bt.v17i1.15>
- Cerón, M. (2016). *Evaluación de la concentración de Cadmio y Níquel en agua, suelos y sedimentos de la Reserva Biológica de Limoncocha para establecer la línea base, 2015-2016*. Universidad Internacional SEK.
- Delgadillo, H. H.-C., González-Escamilla1, E., Castillo-Jiménez, V., Peña-Calva1, A., A., Escamilla-Esquivel, & Aguilar-Hernández, J. R. (2016). Contaminación de lagunas por metales pesados . Propuesta de remediación sustentable [Pollution of lagoons by heavy metals . Proposal for sustainable remediation]. *Ecosistemas*, 1(1), 55–59.
- Ecolap, & Mae. (2007). Guía del Patrimonio de áreas Naturales Protegidas del Ecuador. *Ecofund, FAN, DarwinNet, IGM, Quito*, 305–330. Retrieved from <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Gu?a+del+patrimonio+de+reas+naturales+protegidas+del+Ecuador#0>

- Eurachem. (2005). Métodos analíticos adecuados a su propósito. *Guía de Laboratorio*, 1(1), 1–67.
- Eurachem. (2016). *La Adecuación al Uso de los Métodos Analíticos*.
- Feria, J. J., Marrugo, J. L., & González, H. (2010). Heavy metals in Sinú river, department of Córdoba, Colombia, South America. *Rev. Fac. Ing. Univ. Antioquia*, 55, 35–44. Retrieved from <http://www.scielo.org.co/pdf/rfiua/n55/n55a04.pdf>
- Fierro, E. (2010). *Características ácido-básicas y composición iónica de las lluvias en la Reserva Biológica Limoncocha-Ecuador*.
- Galán, E., & Romero, A. (2008). *Contaminación de Suelos por Metales Pesados*. Macla. Universidad de Sevilla.
- Iturra, F. (2012). *Determinación de residuos de metomil, carbofuran, carbarilo y profenofos en brócoli (Brassica oleracea) por cromatografía líquida de ultra alta eficiencia acoplada a espectrometría de masas en tándem (UHPLC-MS/MS)*. Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- Kraus, R. S. (2012). Petróleo: Prospección y Perforación, 1–16. Retrieved from <http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/TextosOnline/EnciclopediaOIT/tomo3/75.pdf>
- Londoño Carvajal, A., Giraldo Gómez, G. I., & Gutierrez Gallego, Á. lexánder. (2010). Métodos analíticos para la evaluación de la calidad fisicoquímica del agua. *Environment International*, 1(1), 1–149.
- Mainville, N., Webb, J., Lucotte, M., Davidson, R., Betancourt, O., Cueva, E., & Mergler, D. (2006). Decrease of soil fertility and release of mercury following deforestation in the Andean Amazon, Napo River Valley, Ecuador. *Science of the Total Environment*, 368(1), 88–98. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.09.064>
- Navas, D., & Rodríguez, P. (2010). Procesos para la obtención del Petróleo y los Impactos Ambientales Generados por Actividades Petroleras. *Universidad Industrial de Santander*, 1(1), 1–37. Retrieved from <http://repositorio.uis.edu.co/jspui/bitstream/123456789/7491/2/134669.pdf>
- NTE INEN ISO. (2006). Validación de métodos analíticos y estimación de incertidumbre.
- OIE. (2009). Principios y Métodos de Validación de las pruebas de diagnóstico de las

- enfermedades infecciosas. *Manual Acuático de La OIE*, 1–20.
- Ramírez, M. del S., Castineira, M., & Nieto, O. M. (2009). Desarrollo de un método y su validación para la determinación de melatonina en tabletas. *Superficies Y Vacío*, 22(3), 29–32.
- Remache, A. (2013). *Validación De Métodos para el Análisis de Metales En Diferentes Matrices Por Espectrofotometría De Absorción Atómica*. UCE. Retrieved from <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/1859/1/T-UCE-0017-39.pdf>
- Sagardoy, R. (2011). Estudio de la homeostasis de Zn y Cd en plantas superiores Tesis Doctoral. Retrieved from http://www.stressphysiology.com/Sitio_web_Interno_Grupo/PhD_Theses_files/Tesis_Ruth_Sagardoy.pdf
- Ulloa, R. (1988). *Plan De Manejo Reserva Biologica Limoncocha*. Quito-Ecuador.
- UNODC. (2010). Directrices para la validación de métodos analíticos y la calibración del equipo utilizado para el análisis de drogas ilícitas en materiales incautados y especímenes biológicos. *Unodc*. <https://doi.org/ST/NAR/41>
- WEF, A. A. (2005). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater Part 1000 Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.

Anexos

Anexo I: Ubicación de los puntos de muestreo en aguas, suelos y sedimentos

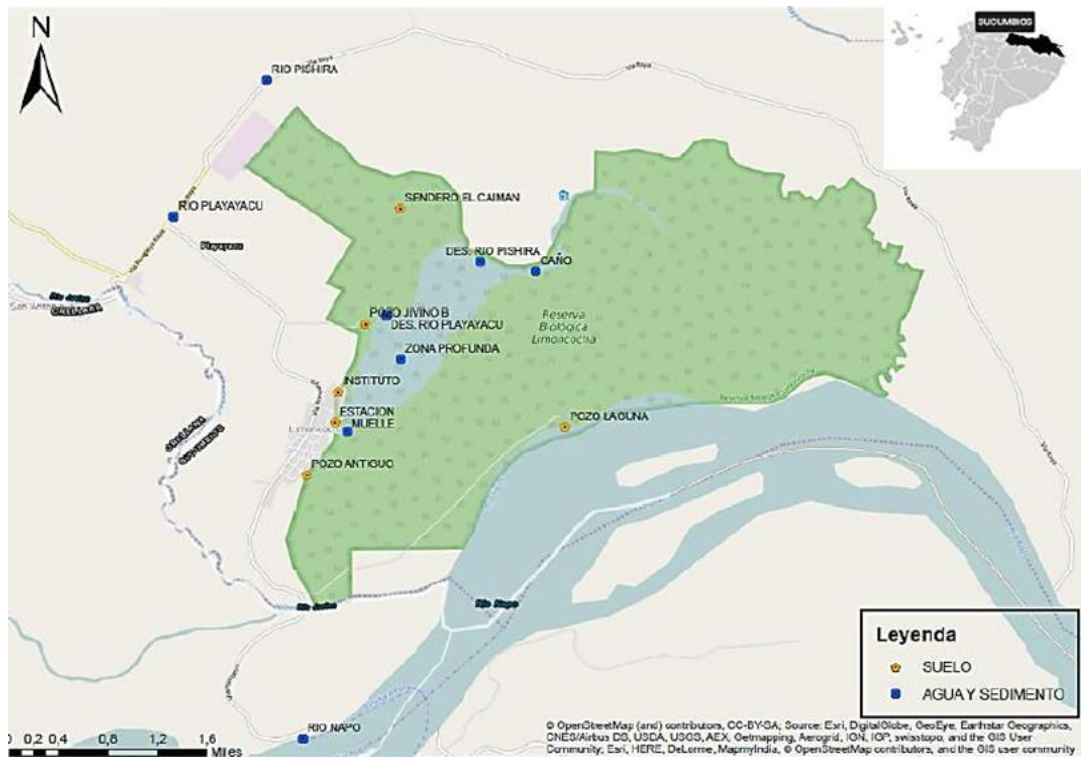


Figura 7: Estándares de 1 mg/L a 4 mg/L de Cobre

Anexo II: Fotografías estándares de Cobre, Níquel, Zinc y Cadmio



Figura 8: Estándares de 5 mg/L a 20 mg/L de Níquel



Figura 9: Estándares de 1 mg/L a 2 mg/L de Zinc

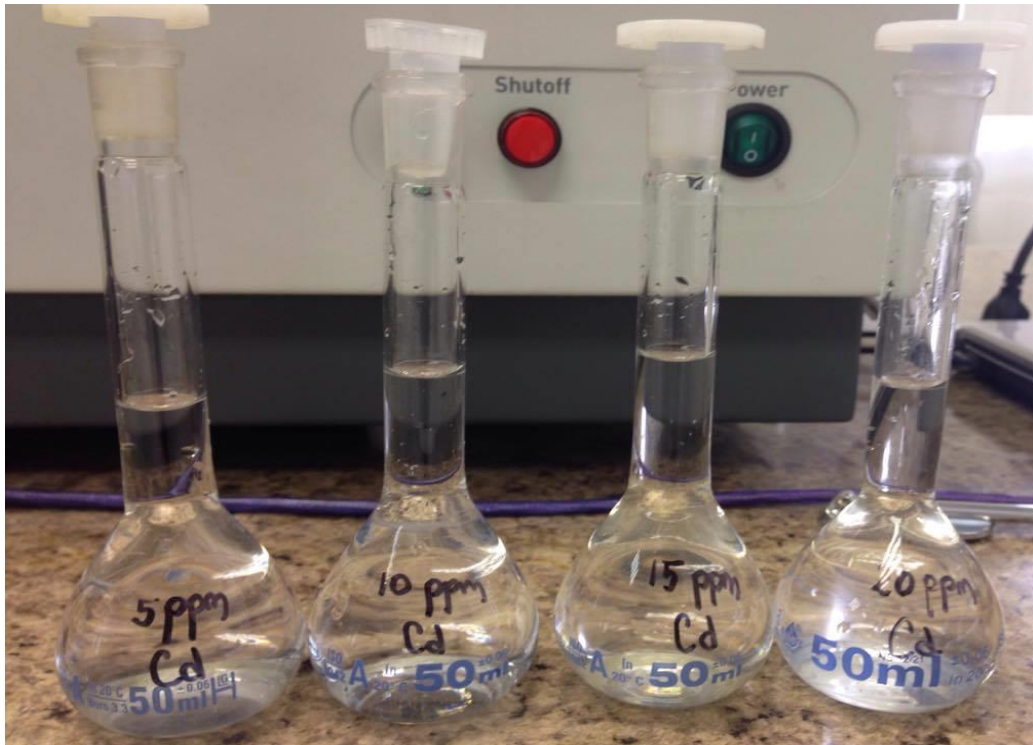


Figura 10: Estándares de 5 mg/L a 10 mg/L de Cadmio

Anexo III: Digestión de muestras de aguas, suelos y sedimentos



Figura 11: Digestión aguas



Figura 12: Digestión de suelos y sedimentos

Anexo IV: Muestras agua, suelo y sedimento de Cu, Ni, Zn y Cd para validación analítica



Figura 13: Muestras de aguas, suelos y sedimentos de Cu



Figura 14: Muestras de aguas, suelos y sedimentos de Ni




Figura 15: Muestras de aguas, suelos y sedimentos de Zn



Figura 16: Muestras de aguas suelos y sedimentos de Cd

Anexo V: Material de referencia certificado 8704 para suelos y sedimentos



National Institute of Standards & Technology

Report of Investigation

Reference Material 8704

Buffalo River Sediment

This Reference Material (RM) is intended primarily for use in the analysis of sediments, soils, or materials of a similar matrix. A unit of RM 8704 consists of 50 g of freeze-dried, radiation-sterilized, homogenized, river sediment that is very similar in composition to SRM 2704, Buffalo River Sediment, having been collected at the same time and location (see "Source and Preparation of Material").

Reference Concentration Values: Reference values for concentrations of 25 elements are given in Table 1. Reference values are noncertified values that are the best estimate of the true value; however, the values do not meet the NIST criteria for certification and are provided with associated uncertainties that may not include all sources of uncertainty.

Information Concentration Value: An information value for arsenic is provided in Table 2. An information value is a noncertified value for which there is insufficient information to assign an uncertainty.

Expiration of Values Assignment: RM 8704 is valid, within the measurement uncertainties specified, until **01 December 2017**, provided the RM is handled and stored in accordance with instructions given in this Report of Investigation (see "Instructions for Use"). This report is nullified if the RM is damaged, contaminated, or otherwise modified.

Maintenance of Reference Values: NIST will monitor this RM over the period of its validity. If substantive technical changes occur that affect the reference values, NIST will notify the purchaser. Registration (see attached sheet) will facilitate notification.

The overall direction and coordination of the analyses were provided by G.C. Turk of the NIST Chemical Sciences Division.

Spectrometric measurements were performed by A.P. Lindstrom of the NIST Materials Measurement Science Division and G.C. Turk, L.J. Wood, and L.L. Yu of the NIST Chemical Sciences Division. Instrumental Neutron Activation Analysis was performed by R.R. Greenberg of the NIST Chemical Sciences Division.

Statistical consultation was provided by W.F. Guthrie of the NIST Statistical Engineering Division.

Support aspects involved in the issuance of this RM were coordinated through the NIST Office of Reference Materials.

Carlos A. Gonzalez, Chief
Chemical Sciences Division

Gaithersburg, MD 20899
Report Issue Date: 30 January 2013
Report Revision History on Last Page

Robert L. Watters, Jr., Director
Office of Reference Materials

RM 8704 Page 1 of 4

SOURCE, PREPARATION, AND ANALYSIS⁽¹⁾

Source and Preparation of Material: The river sediment for SRM 2704 Buffalo River Sediment and RM 8704 Buffalo River Sediment was collected from the Buffalo River in the area of the Ohio Street Bridge, Buffalo, NY. The U.S. Army Corps of Engineers, under contract to NIST, collected and screened approximately 908 kg of river sediment and placed it in six 55-gallon, Teflon[®]-lined drums. The drums were loaded onto a refrigerated truck and transported to the Technimed Corporation, Fort Lauderdale, FL for freeze-drying of the contents. The freeze-dried sediment was shipped to a laboratory contracted by NIST where it was screened and passed through a 150 μm (100 mesh) sieve and retained on a 38 μm (400 mesh) sieve. The SRM 2704 portion of the freeze-dried sediment was sieved and blended at NIST and subsequently radiation-sterilized, and bottled into 50 g units. The RM 8704 portion of the freeze-dried and sieved sediment was retained for approximately 6 years before being blended, radiation-sterilized, divided by a spinning riffler, and bottled into 50 g units.

Methods of Analysis

Spectrometric Comparison to SRM 2704: Samples weighing approximately 0.25 g were taken from each of 8 bottles of RM 8704 and 8 bottles of SRM 2704. The samples were put into solution using a lithium metaborate fusion procedure. The solutions of the two materials were spectrometrically compared using both inductively coupled plasma mass spectrometry (ICPMS) and inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICPOES). Mass fraction values for 18 elements in RM 8704 were calculated from the relative signal intensities (optical and/or mass spectrometric) of RM 8704 versus SRM 2704 and the certified mass fractions of SRM 2704. ICPMS measurements were made for arsenic, barium, calcium, cadmium, cobalt, chromium, iron, magnesium, nickel, lead, titanium, uranium, vanadium, and zinc. For some elements ICPMS signals were measured at more than one mass, and the equally-weighted mean value was used as the ICPMS value. ICPOES measurements were made for aluminum, barium, calcium, cobalt, chromium, iron, potassium, magnesium, manganese, sodium, lead, titanium, uranium, vanadium, and zinc. For the elements for which both ICPMS and ICPOES measurements were made, the equally-weighted mean value was used.

Combustion Analysis: Carbon was determined in 8 bottles of RM 8704 and 8 bottles of SRM 2704 at LECO Corporation, Inc. using combustion analysis with infrared detection. In a manner analogous to the spectrometric comparison, the mass fraction of carbon was calculated from the relative carbon signals of RM 8704 versus SRM 2704 and the certified mass fraction of carbon in SRM 2704. The sample size was 0.25 g.

Instrumental Neutron Activation Analysis (INAA): Samples weighing approximately 0.25 g were taken from each of 8 bottles of RM 8704 and 2 bottles of SRM 2704. Using standards prepared from dried filter papers onto which known amounts of the analytes of interest had been deposited, cerium, cobalt, chromium, cesium, europium, iron, hafnium, antimony, scandium, and thorium, were determined by INAA. SRM 2704 was analyzed as a quality control sample.

INSTRUCTIONS FOR USE

Use: A minimum sample weight of 0.25 g (dry weight - see "Instructions for Drying") should be used for analytical determinations relating to the reference values on this report of investigation.

Sample preparation procedures should be designed to effect complete dissolution. If volatile elements (i.e., mercury, arsenic, selenium) are to be determined, precautions should be taken in the dissolution of RM 8704 to avoid volatilization losses.

Instructions for Drying: When nonvolatile elements are to be determined, samples should be dried for 2 hours at 110 °C. Volatile elements (i.e., mercury, arsenic, selenium) should be determined on samples as received; separate samples should be dried as previously described to obtain a correction factor for moisture. Correction for moisture is to be made to the data for volatile elements before comparing to the reference values. This procedure, which was used for the determination of the volatile elements, ensures that these elements are not lost during drying. The approximate mass loss on drying has been found to be 0.8 %.

⁽¹⁾Certain commercial equipment, instruments or materials are identified in this report to adequately specify the experimental procedure. Such identification does not imply recommendation or endorsement by the National Institute of Standards and Technology, nor does it imply that the materials or equipment identified are necessarily the best available for the purpose.

Table 1. Reference Concentration Values for Selected Elements for RM 8704

Element	Mass Fraction (%)		
Aluminum	6.10	±	0.18
Calcium	2.641	±	0.083
Carbon	3.351	±	0.017
Iron	3.97	±	0.10
Magnesium	1.200	±	0.018
Potassium	2.001	±	0.041
Sodium	0.553	±	0.015
Titanium	0.457	±	0.020

Element	Mass Fraction (mg/kg)		
Antimony	3.07	±	0.32
Barium	413	±	13
Cadmium	2.94	±	0.29
Cerium	66.5	±	2
Cesium	5.83	±	0.12
Chromium	121.9	±	3.8
Cobalt	13.57	±	0.43
Europium	1.31	±	0.038
Hafnium	8.4	±	1.5
Lead	150	±	17
Manganese	544	±	21
Nickel	42.9	±	3.7
Scandium	11.26	±	0.19
Thorium	9.07	±	0.16
Uranium	3.09	±	0.13
Vanadium	94.6	±	4.0
Zinc	408	±	15

Reference Value Uncertainties: The uncertainty in the reference values for aluminum, calcium, potassium, and sodium, derived from spectrometric comparison to SRM 2704 using ICPOES, is expressed as an expanded uncertainty, U , at the 95 % level of confidence, and is calculated according to the ISO Guides [1]. The expanded uncertainty is calculated as $U = ku_c$, where u_c is intended to represent, at the level of one standard deviation, the combined effects of the ICPOES measurement uncertainty and the uncertainty of the SRM 2704 certified value. The uncertainty for the SRM 2704 certified value has been recalculated from the original data according to ISO measurement uncertainty guidelines. The coverage factor, k , was obtained from the Student's t -distribution corresponding to the calculated effective degrees of freedom of u_c using a level of confidence of 95 %.

The uncertainty in the reference values for cadmium and nickel, derived from spectrometric comparison to SRM 2704 using ICPMS, is expressed as an expanded uncertainty, U , at the 95 % level of confidence, and is calculated according to the ISO Guides [1]. The expanded uncertainty is calculated as $U = ku_c$, where u_c is intended to represent, at the level of one standard deviation, the combined effects of the ICPMS measurement uncertainty and the uncertainty of the certified value of SRM 2704. The uncertainty for the certified value of SRM 2704 has been recalculated from the original data according to ISO measurement uncertainty guidelines. The coverage factor, k , was obtained from the Student's t -distribution corresponding to the calculated effective degrees of freedom of u_c using a level of confidence of 95 %.

The uncertainty in the reference values for magnesium, titanium, barium, manganese, lead, uranium, vanadium, and zinc, derived from spectrometric comparison to SRM 2704 using the equally weighted mean of ICPMS and ICPOES measurements, is expressed as an expanded uncertainty, U , at the 95 % level of confidence, and is calculated according to the ISO Guides [1]. The expanded uncertainty is calculated as $U = ku_c$, where u_c is intended to represent, at the level of one standard deviation, the combined effects of the ICPOES measurement uncertainty, the ICPMS measurement uncertainty, and the uncertainty of the SRM 2704 certified value. The uncertainty for the SRM 2704 certified value has been recalculated from the original data according to ISO measurement uncertainty guidelines. The coverage factor, k , was obtained from the Student's t -distribution corresponding to the calculated effective degrees of freedom of u_c using a level of confidence of 95 %.

The uncertainty in the reference values for iron, cobalt, and chromium, derived from the equally weighed mean of a spectrometric comparison to SRM 2704 (using both ICPMS and ICPOES) and an independent INAA analysis, is expressed as an expanded uncertainty, U , at the 95 % level of confidence, and is calculated according to the ISO and NIST Guides [1]. The expanded uncertainty is calculated as $U = ku_c$, where u_c is intended to represent, at the level of one standard deviation, the combined effects of the uncertainty in the spectrometric comparison (which includes ICPMS measurement uncertainty, ICPOES measurement uncertainty, and the uncertainty of the SRM 2704 certified value), the uncertainty of the INAA measurement, and the uncertainty of corrections for method biases [2]. The uncertainty for the SRM 2704 certified value has been recalculated from the original data according to ISO measurement uncertainty guidelines. The coverage factor, k , was obtained from the Student's t -distribution corresponding to the calculated effective degrees of freedom of u_c using a level of confidence of 95 %.

The uncertainty in the reference values of cerium, cesium, europium, hafnium, antimony, scandium, and thorium, derived from INAA analysis alone, is expressed as an expanded uncertainty, U , at the 95 % level of confidence, and is calculated according to the ISO Guides [1]. The expanded uncertainty is calculated as $U = ku_c$, where u_c is intended to represent, at the level of one standard deviation, the uncertainty of the INAA measurements. The coverage factor, k , was obtained from the Student's t -distribution corresponding to the calculated effective degrees of freedom of u_c using a level of confidence of 95 %.

The uncertainty in the reference value of carbon, derived from comparison to SRM 2704 using combustion analysis, is expressed as an expanded uncertainty, U , at the 95 % level of confidence, and is calculated according to the ISO Guides [1]. The expanded uncertainty is calculated as $U = ku_c$, where u_c is intended to represent, at the level of one standard deviation, the combined effects of the combustion analysis measurement uncertainty and the uncertainty of the SRM 2704 certified value. The uncertainty for the SRM 2704 certified value has been recalculated from the original data according to ISO measurement uncertainty guidelines. The coverage factor, k , was obtained from the Student's t -distribution corresponding to the calculated effective degrees of freedom of u_c using a level of confidence of 95 %.

Table 2. Information Concentration Value for Arsenic for RM 8704

Element	Mass Fraction (mg/kg)
Arsenic	17

Information Value for Arsenic: This information value was determined by spectrometric comparison to SRM 2704 using ICPMS after adjusting the certified value of arsenic in SRM 2704 downward by 6 %. The adjustment is based on measurements made at NIST since 1996, that indicate the certified value for SRM 2704 is no longer valid due to a loss of approximately 6 % of the arsenic from SRM 2704. The arsenic value in RM 8704 is given for information only because there is insufficient information to assign an uncertainty.

REFERENCES

- [1] JCGM 101:2008; *Evaluation of Measurement Data — Supplement 1 to the “Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement” — Propagation of Distributions using a Monte Carlo Method*; Joint Committee for Guides in Metrology (JCGM) (2008) available at http://www.bipm.org/utls/common/documents/jcgm/JCGM_101_2008_E.pdf (accessed Jan 2013).
- [2] Levenson, M.S.; et al, *An ISO GUM Approach to Combining Results from Multiple Methods*; unpublished manuscript.

Report Revision History: 30 January 2013 (Removed copper and thallium from list of elements analyzed by ICPMS); 08 January 2008 (Update of expiration date and editorial changes); 03 March 2000 (Original report date).

Users of this RM should ensure that the Report of Investigation in their possession is current. This can be accomplished by contacting the SRM Program: telephone (301) 975-2200; fax (301) 948-3730; e-mail srminfo@nist.gov; or via the Internet at <http://www.nist.gov/srm>.

Anexo VI: Fotografía del Material de referencia certificado 8704 para suelos y sedimentos



Figura 17: Reference Material 8704 Buffalo River Sediment



Figura 18: Reference Material 8704 Buffalo River Sediment