



UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y AMBIENTALES

Trabajo de Fin de Carrera Titulado:

**“LÍMITES DE DETECCIÓN Y APRECIACIÓN DE Ba, Cr, Pb, V EN AGUAS,
SUELOS Y SEDIMENTOS DE LA RESERVA BIOLÓGICA LIMONCOCHA PARA
SU VALIDACIÓN ANALÍTICA 2015-2017”**

Realizado por:

GISELLA PAOLA GUEVARA ESCOBAR

Director del proyecto:

Mg. Katty Coral Carrillo

Como requisito para la obtención del título de:

INGENIERO AMBIENTAL

Quito, 26 de julio de 2017

DECLARACION JURAMENTADA

Yo, GISELLA PAOLA GUEVARA ESCOBAR, con cédula de identidad # 172098574-4, declaro bajo juramento que el trabajo aquí desarrollado es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado a 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.

Gisella Guevara.

Gisella Paola Guevara Escobar

C.I. 172098574-4

DECLARATORIA

El presente trabajo de investigación titulado:

“LÍMITES DE DETECCIÓN Y APRECIACIÓN DE Ba, Cr, Pb, V EN AGUAS, SUELOS Y SEDIMENTOS DE LA RESERVA BIOLÓGICA LIMONCOCHA PARA SU VALIDACIÓN ANALÍTICA 2015-2017”

Realizado por:

GISELLA PAOLA GUEVARA ESCOBAR

como Requisito para la Obtención del Título de:

INGENIERO 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, 26 de Julio de 2017

AGRADECIMIENTOS

A *Dios* por bendecirme todos los días para llegar hasta donde he llegado, por haberme guiado a lo largo de toda mi carrera y porque hizo realidad este sueño anhelado.

A mis *padres*, Jaime y Paulina, por ser mi apoyo incondicional en todo momento e inculcarme buenos valores para toda mi vida, gracias a sus consejos, amor incondicional y dedicación me han hecho la persona que soy hoy en día.

A mis *hermanas*, Piedad y Pamela, por ser parte importante de mi vida y representar la unidad familiar, apoyándonos siempre para alcanzar nuestras metas juntas y mantenernos unidas en todo momento.

A mi *sobrina*, Paula por ser una parte fundamental en mi vida, brindarme alegría y amor desde el día que nació.

A mis *amigos* por esos momentos de alegría, vivencias y su cariño sincero por ello nunca los olvidare.

A mis *profesores*, por su confianza, dedicación y ser excelentes profesionales.

De manera especial agradezco a *Katty Coral, Miguel Martínez-Fresneda e Ivonne Carrillo* por ayudarme a cumplir este éxito, brindarme su apoyo y las herramientas necesarias para elaborar este trabajo de titulación.

DEDICATORIA

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

ÍNDICE DEL CONTENIDO

RESUMEN.....	2
ABSTRACT	4
INTRODUCCIÓN.....	6
MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
<i>Equipos</i>	17
<i>Materiales y Reactivos</i>	17
<i>Objetivos de la validación</i>	19
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	22
<i>Determinación de Bario en aguas, suelos y sedimentos</i>	22
<i>Determinación de Cromo en aguas, suelos y sedimentos</i>	25
<i>Determinación de Plomo en aguas, suelos y sedimentos</i>	27
<i>Determinación de Vanadio en aguas, suelos y sedimentos</i>	30
CONCLUSIONES.....	33
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
ANEXOS	37
Anexo I: Tabla 2: “Criterios de calidad admisibles para la preservación de la vida acuática y silvestre en aguas dulces, marinas y de estuarios”	37

Anexo II: Tabla 4a) Límites permisibles para el monitoreo ambiental permanente de aguas y descargas líquidas en la exploración, producción, industrialización, transporte, almacenamiento y comercialización de hidrocarburos y sus derivados, inclusive lavado y mantenimiento de tanques y vehículos.....	39
Anexo III: Tabla 1: Criterios de calidad del suelo	40
Anexo IV: Equipo de Espectrofotometría de Absorción atómica de horno de grafito (GFAAS)	41
Anexo V: Equipo de Espectrofotometría de absorción atómica con llama (EAA).....	41
Anexo VI: Material de Referencia para aguas	42
Anexo VII: Material de Referencia para sedimentos y suelos	42
Anexo VIII: Estándares Ba, Cr, Pb y V	43
Anexo IX: Muestras de Aguas, Suelos y Sedimentos para Ba, Cr, Pb, V	44
Anexo X: Certificado del Material de Referencia para sedimentos y suelos.....	46
Anexo XI: Método EPA 3050 “Acid Digestion of sediments, Sludges and Soils”	47

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I. Normativa Ecuatoriana vigente aplicable en aguas	10
Tabla II: Normativa aplicable para suelos	10
Tabla III: Normativa aplicable para sedimentos	10
Tabla IV: Parámetros de la validación analítica y objetivos para Bario.....	20
Tabla V: Parámetros de la validación analítica y objetivos para Cromo	21
Tabla VI: Parámetros de la validación analítica y objetivos para Plomo	21
Tabla VII: Parámetros de la validación y objetivos para Vanadio	21
Tabla VIII: Datos primarios para validación de Ba en aguas, suelos y sedimentos.....	22
Tabla IX: Resultados de la validación de Ba en aguas, suelos y sedimentos	24
Tabla X: Datos primarios para validación de Cr en aguas, suelos y sedimentos.....	25
Tabla XI: Resultados de la validación de Cr en aguas, suelos y sedimentos.....	27
Tabla XII: Datos primarios para validación de Pb en aguas, suelos y sedimentos	27
Tabla XIII: Resultados de la validación de Pb en aguas, suelos y sedimentos	30
Tabla XIV: Datos primarios para validación de Va en aguas, suelos y sedimentos.....	30
Tabla XV: Resultados de la validación de V en aguas, suelos y sedimentos	32

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura I. Mapa de la RBL (MAE, 2011).....	11
Figura II. Curva de calibración para Ba.....	23
Figura III. Curva de calibración para Cr	26
Figura IV. Curva de calibración para Pb	28
Figura V. Curva de calibración para V	31

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación I. Cálculo Límite de Detección	14
Ecuación II. Cálculo Límite de Cuantificación	15
Ecuación III. Cálculo de Repetibilidad	16
Ecuación IV. Cálculo % de Repetibilidad	16
Ecuación V. Cálculo Intervalo de Confianza.....	16
Ecuación VI. Cálculo % de Recuperación	17

Para someter a: *Revista CENIC. Ciencias Químicas*

To be submitted: *Revista CENIC. Ciencias Químicas*

LIMITES DE DETECCIÓN Y APRECIACIÓN DE BARIO, CROMO, PLOMO, VANADIO EN AGUAS, SUELOS Y SEDIMENTOS DE LA RESERVA BIOLÓGICA DE LIMONCOCHA PARA SU VALIDACIÓN ANALÍTICA 2015-2017.

LIMITS OF DETECTION AND APPRECIATION OF BARIO, CROMO, LEAD, VANADIUM IN WATERS, SOILS AND SEDIMENTS OF THE BIOLOGICAL RESERVE OF LIMONCOCHA FOR THE ANALYTICAL VALIDATION 2015-2017.

Gisella Guevara¹, Katty Coral^{1*}

¹ Universidad Internacional SEK, Facultad de Ciencias Naturales y Ambientales, Quito, Ecuador.

* AUTOR DE CORRESPONDENCIA: Master. 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 Ba, Cr, Pb, V en aguas....

RESUMEN

La Reserva Biológica Limoncocha (RBL) se encuentra en la región amazónica norte del Ecuador, ubicada en el cantón Shushufindi de la provincia de Sucumbíos protege a humedales, pantanos y bosques húmedos tropicales; en los primeros años de la década de los 90, empieza la explotación petrolera en el sector de Limoncocha, con esto empieza el desarrollo del campo petrolero, instalación de pozos, estaciones de bombeo, oleoductos, carreteras, campamentos y demás facilidades, así como actividades propias de la comunidad. Por este tipo de actividades antropogénicas los metales pesados aparecen y poseen un gran interés ambiental por las consecuencias que pueden causar al ambiente y a los ecosistemas.

En el presente trabajo tiene como objetivo la validación del método espectrofotométrico de absorción atómica para detección de bario, cromo, plomo y vanadio en aguas, suelos y sedimento de la RBL. La absorción atómica es una técnica aplicable cuando se quieren determinar rangos muy bajos de límites de detección y permite la determinación de micro cantidades de metales en muestras líquidas; se evaluaron parámetros como el límite de detección y cuantificación, repetibilidad, intervalo de confianza y porcentaje de recuperación, para finalmente comparar con la normativa vigente del Ecuador (AM 097 A) para aguas, suelos y para sedimentos se toma en cuenta la normativa internacional.

Los resultados que se obtuvieron para Bario, Cromo y Plomo en aguas correspondiente al % de recuperación son de 101.306, 100.685 y 104.401% respectivamente los cuales se encuentran dentro del objetivo establecido entre 90-110%; el % de repetibilidad en suelos fue de 97, 99 y 98% respectivamente y en sedimentos el límite de detección fue de 0.177, 0.213 y 0.027 mg/L respectivamente.

También se determinó que las concentraciones de Bario, Cromo y Vanadio, a diferencia de las concentraciones de Plomo en aguas, no superan los límites permisibles establecidos en la Normativa Legal Ecuatoriana AM 097 A y RAOH 1215.

Palabras clave: Validación analítica, metales pesados, límite de detección y cuantificación, contaminación, absorción atómica, Ecuador.

ABSTRACT

The Biologic Reserved of Limoncocha (RBL), is located by the north Amazonian region of Ecuador, Sucumbios province, Shushufindi town. This reservation protects swaps, rainforest and wetlands. In the early 90's the petroleum exploitation started, specifically in the sector of Limoncocha, this was the beginning of the petroleum market on the area, installation of wells, stations of pumping, oil pipelines, roads, camps and other facilities, as well as activities of the community. Due to these anthropocentric activities, there is a lot of heavy metals appearance that has high environmental interest due to the consequences to the environment and ecosystems.

This project has an objective to validate the spectrophotometry method of atomic absorption for detection of barium, chromium, lead and vanadium in water, soil and sediment of the RBL. The atomic abortion is an applicable technique that is used when trying to determine the lowest ranges of limits of detection. It also allows to determine the quantities of micro metals on water samples. Parameters such as detection and quantification limits, repeatability, intervals of trust and recovery percentage were evaluated. Finally these results were compared to the required levels for Ecuador (AM 097 A) for water and soil, for the sediments were compared to international levels.

The obtained results for barium, chromium and lead in water that corresponds to the recovery percentage are 101.306, 100.685 and 104.401% respectively they are under the established objects in between 90-110%, the repeatability in soil was 97, 99% and 98% respectively; for sediments the result was 0.177, 0.213 and 0.027 mg/L respectively.

In addition, it was determined that the barium, chromium and vanadium concentrations differ to the lead concentrations in water, do not go over the permitted limits that were established on Ecuadorian Legal Regulations: AM 097 A and RAOH 1215.

***Key words:** Analytical validation, heavy metals, limit of detection and quantification, contamination, atomic absorption, Ecuador.*

INTRODUCCIÓN

Según Lilia (2007), la contaminación ambiental siempre ha existido, siendo las actividades que realiza el ser humano, una fuente de gran aportación de esta. En los últimos años los acontecimientos a nivel mundial han aumentado y llaman profundamente la atención, los efectos que se producen sobre el ambiente y la salud de las personas, son hoy en día, son más conocidos. Los efectos más graves de la contaminación suceden con la entrada de sustancias (naturales o sintéticas) al ambiente y estas exceden la capacidad de los ecosistemas para asimilarlos y/o degradarlos.

A fines del siglo XVIII durante la Revolución Industrial, los casos de contaminación iniciaron y después de la Segunda Guerra Mundial se agravaron por el aumento del consumo de energía, la extracción, producción y/o uso de diversas sustancias naturales y sintéticas (Lilia, 2007).

El agua, sedimentos y el suelo son recursos naturales muy valiosos para la vida del ser humano, sin embargo, pueden ser contaminados por la actividad antropogénica convirtiéndose en un problema ambiental (Vázquez, 2012).

Los metales pesados son elementos químicos, los cuales poseen un gran interés ambiental por la contaminación y consecuencias que pueden provocar en los ecosistemas, pueden ser de origen natural cuando los contenidos de metales se atribuyen a la composición de los minerales que se encuentran en el suelo o antropogénico cuando las concentraciones son mayores a las correspondientes a su composición geoquímica y son el resultado de las diferentes actividades realizadas por el hombre (Barber, 1995).

Sin embargo, las actividades industriales, agrícolas, mineras y ganaderas, o el propio tráfico son considerados como procesos de origen antropogénico los cuales se convierten en una fuente de metales pesados (Ordoñez, 2015).

Los niveles de estos metales en los cuerpos de agua, suelos y sedimentos béticos permiten determinar el nivel de toxicidad de los mismos, su potencial ingreso y afectación hacia la cadena trófica; el monitoreo y control del contenido de metales pesados en el agua, suelo y sedimentos provenientes de las actividades antropogénicas, es importante para la valoración de la calidad y protección de los ecosistemas (Agurto, 2016).

Los metales una vez que están en medios acuáticos, por medio de procesos biogeoquímicos se pueden distribuir y transformar entre varias especies con diferentes características físico-químicas, puede ser material particulado ($>0,45 \mu\text{m}$), coloidal ($1 \text{ nm}-0,45 \mu\text{m}$) y especies disueltas ($=1 \text{ nm}$). Una característica importante de los metales es que son persistentes y no se degradan por procesos biológicos o antropogénicos (Reyes, Vergara, Torres, Díaz, & González, 2016).

Es importante tener en cuenta la cantidad de plomo, cadmio, cobre y vanadio que se incorpora en el agua, aire y suelo, porque por medio de mecanismos como el ciclo del agua, todos los metales que se encuentran en los mismos se pueden depositar en los océanos, convirtiéndose en una fuente muy importante de contaminación de las aguas limpias y esto afectaría notablemente a los organismos vivos que habitan en dichos lugares, acumulando diferentes metales en su organismo (Vázquez, 2012).

Los metales pesados pueden llegar a ser muy peligrosos para los seres humanos y los ecosistemas, en muchos casos pueden actuar como tóxicos lo cual dependerá de la dosis absorbida, vías de exposición, naturaleza química del metal y en algunos casos pueden llegar a ser cancerígenos (Ferré., Schuhmacher., Llobet & Domingo, 2007).

Existen algunos metales que son esenciales para mantener el metabolismo del cuerpo humano como el cobre, selenio, zinc; a pesar de ello hay que tomar en cuenta que existen concentraciones más altas, las cuales pueden causar un terrible daño y acabar en envenenamiento un ejemplo de esto es la contaminación que existe en el agua potable donde las tuberías son de plomo (Ordoñez, 2015).

Los efectos que causan los metales pesados tanto en el ambiente y en la salud de las personas son diferentes y dependen de cada metal y elemento químico contaminante, porque tienen un mecanismo de acción y un lugar de acumulación específico. Los efectos sobre el medio son bastantes graves porque cambian la alcalinidad del suelo, contaminan el agua y cultivos, afecta a la fauna (Romero, 2009).

El problema más grave de la contaminación ambiental por metales pesados en el ambiente, es su efecto muy silencioso y se lo nota cuando ya es tarde, porque su daño ya está hecho y es muy peligroso para la salud; en los últimos años se están tomando medidas preventivas en países industrializados así estas sean costosas.

A continuación se describirán los metales que van hacer estudiados y validados (Ba, Cr, Pb, V):

La Organización Mundial de la salud (OMS) considera al bario como un metal pesado nocivo y la Agencia de Protección Ambiental Americana (EPA) lo considera como peligroso, si existe sulfato de bario y carbonato de bario en el aire y los seres humanos lo respiran es cuando se producen los mayores riesgos para la salud (Yaruro, Peña, Escalante & Hernández, 2008).

El cromo es un metal presente en rocas, en animales, en las plantas, en el agua y el suelo en concentraciones variables y tiene dos estados de oxidación Cr (III) o Cr (VI), además se puede encontrar como óxido de cromo, trióxido de cromo, ácido crómico y dicromato. El agua y suelo

contienen Cr (VI) y en presencia de materia orgánica es reducido a Cr (III), pero altas concentraciones del ion en estado hexavalente pueden exceder su capacidad de reducción, impidiendo su adecuada eliminación (Álvarez *et al.*, 2013).

El plomo es un elemento tóxico y se lo considera como un contaminante antropogénico, cuando se inhala aire, se ingiere alimentos o agua se acumula en el cuerpo (Trejos, 2008); se lo puede encontrar en todas partes del ambiente, pero gran cantidad es causado por las actividades antropogénicas como la quema de combustibles fósiles, explotación minera y la manufactura (ASTDR, 2007b).

El vanadio es considerado como un compuesto contaminante desde 1985, por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA); además la Agencia para Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades (ATSDR) identificó los efectos adversos que tiene el vanadio en la salud humana como daños al hígado, riñones y corazón (ASTDR, 2007a).

Para el desarrollo del presente estudio se identificó el marco legal apropiado y aplicable, que sea capaz de garantizar los derechos y el correcto desenvolvimiento de la investigación. El Acuerdo Ministerial 097 A es el cuerpo legal reforma el Texto Unificado de Legislación Secundaria y acuerda expedir los anexos del Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio el Ambiente, la tabla 2: “*Criterios de calidad admisibles para la preservación de la vida acuática y silvestre en aguas dulces, marinas y de estuarios*” (Ver Anexo I), es aplicable para determinar el límite de cuantificación en aguas de Bario, Cromo, Plomo.

Para Vanadio se utiliza la Normativa RAOH 1215, la cual regula actividades hidrocarburíferas susceptibles de producir impactos ambientales; motivo por el cual, este se aplicará a todas las operaciones hidrocarburíferas y afines que se llevan a efecto en el país. Para el presente estudio se aplica la tabla 4a: “*Límites permisibles para el monitoreo ambiental*”

permanente de aguas y descargas líquidas en la exploración, producción, industrialización, transporte, almacenamiento y comercialización de hidrocarburos y sus derivados, inclusive lavado y mantenimiento de tanques y vehículos” (Ver Anexo II).

Tabla I. Normativa Ecuatoriana vigente aplicable en aguas

PARÁMETROS	UNIDAD	AGUA DULCE
Bario	mg/L	1,0
Cromo Total	mg/L	0,032
Plomo	mg/L	0,001
Vanadio	mg/L	< 1

Fuente: Autor, Acuerdo Ministerial 097 A, RAOH 1215

Para el presente estudio en suelos se aplica el Acuerdo Ministerial 097 A, la tabla 1: “Criterios de calidad del suelo” (Ver Anexo III).

Tabla II: Normativa aplicable para suelos

PARÁMETROS	UNIDAD	VALOR
Bario	mg/kg	200
Cromo Total	mg/kg	54
Plomo	mg/kg	19
Vanadio	mg/kg	76

Fuente: Autor, Acuerdo Ministerial 097 A

Para sedimentos se usó Normativa Internacional de la EPA y de Canadá CCME.

Tabla III: Normativa aplicable para sedimentos

PARÁMETROS	UNIDAD	EPA (mg/kg)	NORMATIVA CANADÁ CCME (mg/kg)	PROMEDIO
Cromo	mg/kg	36	37.3	36.79
Vanadio	mg/kg	-	35	35.00

Fuente: Autor, EPA, Normativa Canadá CCME

La Amazonia Ecuatoriana tiene un ecosistema muy diverso, heterogéneo y altamente frágil por la gran cantidad de especies que habitan en el mismo, manteniendo en estabilidad sus relaciones ecológicas (MAE, 2011).

La Reserva Biológica Limoncocha (RBL) ubicada en el cantón Shushufindi de la provincia de Sucumbíos, en la región Amazónica norte del Ecuador, protege a los humedales, pantanos y bosques húmedos tropicales que la rodean, también resguarda a las lagunas Limoncocha y Yanacocha que se encuentran dentro de la misma. La laguna de Limoncocha aloja una gran variedad de flora y fauna muy singular, principalmente en sus orillas las cuales tienen todas las condiciones para vivir en la interacción agua-bosque (MAE, 2015).

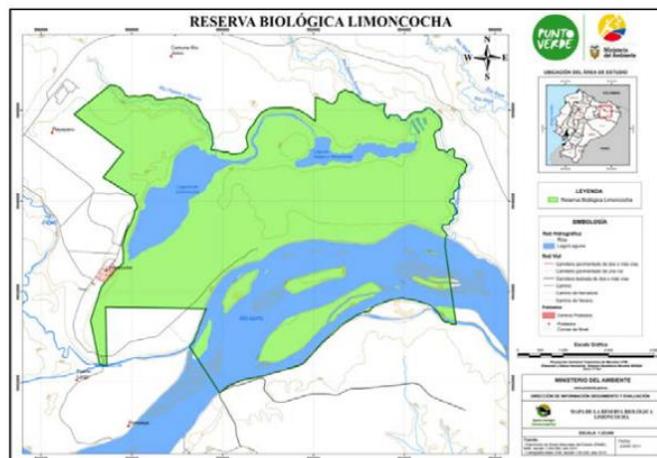


Figura I. Mapa de la RBL (MAE, 2011)

La RBL es uno de los ecosistemas más importantes del Ecuador por su superficie y categorización, se debe manejar con acciones que ayuden al desarrollo sustentable y sostenible de todos sus recursos; también se debe tomar en cuenta a las comunidades existentes en la zona de

influencia y lo fundamental es gestionar y conservar los recursos existentes en la RBL (MAE, 2011).

Los metales pesados en los últimos años han aumentado, debido a la industria y urbanización causando contaminación en el agua, suelo y también generando problemas en la salud de las personas por su toxicidad. La cuantificación de los contaminantes se efectúa con una serie de análisis mediante equipos especializados como el de absorción atómica, el cual identifica y cuantifica la cantidad de metales que se encuentra en aguas, suelos y sedimentos.

En Ecuador se han realizado algunos estudios de validación de métodos para analizar diferentes metales, teniendo en cuenta parámetros como el límite de detección, apreciación, exactitud, etc. Entre ellos se indica: “Validación de métodos para el análisis de metales en diferentes matrices por espectrofotometría de absorción atómica” realizado por Remache, (2013). Otro estudio elaborado por Agurto, (2016) es la “Evaluación de la concentración de metales de la RBL”, el cual ayuda para tener datos confiables y también tener un seguimiento de las actividades que pueden afectar a la laguna de Limoncocha.

Según OIE, (2009) el adjetivo “válido” o el sustantivo “validez”, muestran si el rendimiento de la prueba está sesgado en relación a los valores verdaderos de cada uno de los parámetros; estos términos pueden ser aplicados a una medición cuantitativa o cualitativa.

Validar un método analítico es verificar y documentar su validez, se toma en cuenta los requisitos previamente establecidos por el usuario para solucionar un problema analítico particular. Para dicha resolución se definen ciertos parámetros y criterios de calidad que el método utiliza, los cuales son de tipo estadístico u operativo/económico (Maroto, 2002).

Mediante la validación de un método se determina la capacidad de una prueba y se realiza para un fin determinado, el cual fue desarrollado, optimizado y estandarizado de la mejor manera. La validación incluye estimaciones de las características de rendimiento analítico y diagnóstico de una prueba (OIE, 2009).

La validación tiene como objetivo demostrar que un método es apto para un fin, al definir sus características y limitaciones, mediante el abastecimiento de evidencia objetiva; la cual debe satisfacer los requerimientos de la aplicación o del campo de uso dado y será tan extensiva como sea necesario (Vázquez, 2012).

La validación de un método es necesaria porque se hacen millones de mediciones analíticas a diario en diferentes laboratorios en todo el mundo y algunas de las razones por las cuales se realiza son: para controlar la calidad del agua, para apoyar a la salud y para evaluar bienes para propósitos de comercio. Las mediciones analíticas son fundamentales en cada aspecto de la sociedad y de cierta manera están relacionadas (CENAM, 2005).

El realizar este tipo de mediciones en muchas ocasiones tiene un costo elevado y más cuando se toman decisiones en base a los resultados y se incrementan los gastos. Un ejemplo claro de esto es que se puede demostrar que algún alimento no sea adecuado para el consumo humano y por ende existan demandas por compensación; por eso es muy importante tener resultados verídicos y correctos para demostrar que lo es (CENAM, 2005).

Se valida un método siempre y cuando se necesite verificar que todos sus parámetros establecidos sean los mejores para el uso en un problema analítico específico, por ejemplo: un método previamente establecido para realizar mejoras a un nuevo problema. La validación tiene

cierto alcance, el cual va a depender de los cambios que se realicen al momento de aplicar un método, los cuales pueden ser que se ejecute en diferentes laboratorios, con distinta instrumentación, operadores y varias circunstancias que se van dando en las cuales el método va a ser utilizado (CENAM, 2005).

Este estudio validó los métodos para determinar metales en aguas, suelos y sedimentos de la RBL, mediante el Espectrofotómetro de Absorción atómica de horno de grafito (GFAAS) y el Espectrofotómetro de absorción atómica con llama (EAA); esta investigación se basó en parámetros como el límite de detección y cuantificación, repetibilidad, intervalo de confianza y porcentaje de recuperación.

El límite de detección (LD) es la menor concentración de un analito, la cual se puede detectar pero no puede ser cuantificada en todos los casos, a un cierto nivel de confianza (generalmente 95%); también se conoce como la concentración de la muestra del valor del blanco más tres desviaciones estándar de la media del blanco (Remache, 2013).

La fórmula que se utiliza es la siguiente:

$$LD = \bar{y}_b + 3S_b$$

Ecuación I

Donde: \bar{y}_b = promedio de las lecturas del blanco,

S_b = desviación estándar de las lecturas del blanco

El límite de cuantificación (LC), o “límite de determinación”; se define como la concentración más baja del analito, la cual con un cierto nivel aceptable de precisión, de repetibilidad y veracidad puede ser determinada. También es la concentración del analito

equivalente al valor de la muestra del blanco más 5, 6 ó 10 desviaciones estándar de la media del blanco (CENAM, 2005; Remache, 2013).

Para obtener el valor del límite de cuantificación se debe realizar varias mediciones del “blanco”, de ahí se obtiene el valor de la media y desviación estándar respectiva. Para realizar sus cálculos se ocupa la ecuación siguiente:

$$LC = \bar{y}_b + 10S_b$$

Ecuación II

Donde: \bar{y}_b = promedio de las lecturas del blanco,

S_b = desviación estándar de las lecturas del blanco.

El grado de relación entre los resultados que se obtiene de mediciones consecutivas, se conoce como repetibilidad la cual se efectúa con las mismas condiciones de trabajo, mismo operador, mismo equipo de trabajo y condiciones del mismo, que sus repeticiones sean realizadas en un intervalo de tiempo corto y mismo procedimiento de ensayo (CENAM, 2005).

Según Vázquez, (2012) :

“La repetibilidad se puede expresar cuantitativamente en términos de la característica de la dispersión de los resultados y puede ser determinada por medio del ensayo de patrones, material de referencia o adición a blanco en varias concentraciones en el intervalo de trabajo. Se sugieren 7 o más repeticiones para el cálculo de la desviación estándar para cada concentración, llamado desviación estándar de repetibilidad”. (p. 45)

Para realizar los cálculos del coeficiente de variabilidad se ocupa la formula siguiente:

$$CVR (\%) = \frac{Sr * 100}{X}$$

Ecuación III

Donde: \bar{x} = promedio de las muestras

Sr = desviación estándar

Para el porcentaje de variabilidad se obtiene con:

$$\% \text{ Repetibilidad} = 100 - CVR$$

Ecuación IV

El Intervalo de confianza (IC) proporciona el rango donde se puede encontrar el “valor verdadero” con una probabilidad determinada (ISO, 2013). El intervalo de confianza se calcula de la siguiente ecuación:

$$IC = x \pm \frac{t(v, \alpha)S}{\sqrt{n}}$$

Ecuación V

Donde: $t(v, \alpha)$ es el valor de T-student para v grados de libertad y un nivel de significación de α

n = número de muestras

El porcentaje de recuperación de analitos es la respuesta del detector cuando se adiciona o extrae el analito de la matriz, referente a la concentración real del estándar de referencia y su valor verdadero; la recuperación del analito no debe ser del 100%, pero debe ser estable el grado de recuperación del analito y del estándar interno, precisa y reproducible (más del 20%) dependiendo de la concentración analizada (UNODC, 2010).

Para realizar los cálculos del porcentaje de recuperación se ocupa la formula siguiente:

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{\text{Valor Experimental}}{\text{Valor Teórico}} \times 100$$

Ecuación VI

El objetivo de este trabajo fue establecer el límite de detección y apreciación para los metales Bario, Cromo, Plomo y Vanadio en aguas, suelos y sedimentos de la “Reserva Biológica de Limoncocha” para su respectiva validación en el periodo de los años 2015 al 2017. Esto se realizó mediante el uso del equipo de espectrofotometría de absorción atómica de horno de grafito (GFAAS) y espectrometría de absorción atómica con llama (EAA) en el laboratorio de procesos de la Universidad Internacional SEK de la facultad de Ciencias Naturales Ambientales, adicionalmente este estudio utilizó la normativa ecuatoriana para brindar mayor confiabilidad y credibilidad a los objetivos de validación planteados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Equipos

Para realizar la validación del método se usó el equipo de Espectrofotometría de Absorción atómica de horno de grafito (GFAAS) (Ver Anexo IV) y el Espectrofotometría de absorción atómica con llama (EAA) (Ver Anexo V). Para la digestión del “blanco” y el triple lavado de los materiales con agua regia se utilizó la cabina extractora de gases.

Materiales y Reactivos

Los materiales usados como balones de 50mL, 100mL y 250mL, vasos de precipitación 250mL, 50mL, probetas, goteros fueron sometidos a un procedimiento de limpieza con agua regia que es una proporción 3:1 de ácido clorhídrico concentrado y ácido nítrico respectivamente.

Para la preparación de la muestra denominada “blanco”, se siguió el procedimiento *Standard Methods: 3030E: Nitric Acid Digestion of Metals*. Para poder realizar esta técnica de digestión es necesario realizar un triple lavado de los materiales a usar, luego colocar 100 mL de agua ultra pura en un vaso de precipitación y añadir 5 mL de ácido nítrico (HNO_3) y tapar con un vidrio reloj. Se colocó el vaso de precipitación sobre una plancha de calentamiento a 105°C hasta obtener un volumen de muestra de 10 a 20 mL. Una vez terminado el proceso de digestión, se dejó enfriar el vaso y se lavaron las paredes del mismo con agua ultra pura hasta alcanzar 50 mL, para proceder a traspasar a un balón aforado de 100mL, aforarlo y etiquetarlo como “blanco”.

Las disoluciones patrones o estándares que se utilizaron en la preparación de las curvas de calibración se obtuvieron a partir de soluciones estándar de referencia de 1000 ppm de Ba, Cr, Pb y V aforándose en todos los casos con agua ultra pura (Anexo VI).

Para analizar los metales Ba, Cr, Pb, V por los métodos ya mencionados se necesita que las muestras se encuentren en forma líquida, esto quiere decir que tuvieron un pre tratamiento, fueron digeridas y envasadas correctamente para su posterior evaluación (Anexo VII).

Para empezar con la validación analítica: se inició con la preparación de los estándares para cada uno de los metales con diferentes concentraciones en partes por millón, para poder obtener la curva de calibración del equipo de absorción atómica con llama (EAA), después se realizó un estándar de un valor intermedio a los efectuados anteriormente, se eligió una muestra problema de agua, suelo y sedimento de la RBL, la cual debe tener una lectura de concentración repetida, misma que será con la cual se realicen las mediciones respectivas para la validación. A continuación se realizó la medición respectiva de la muestra problema y del estándar intermedio cinco veces para obtener diez réplicas de aguas, suelos y sedimentos.

También se hizo la validación analítica con un Material de Referencia Certificado de aguas (Ver Anexo VIII) y sedimentos (Ver Anexo IX), el cual fue comprado por la Universidad SEK; para realizar la respectiva validación se utilizó la misma metodología que para validar la muestra problema y el estándar extra. Dicho Material cuenta con el certificado de análisis correspondiente.

El Material de Referencia 8704 del río Buffalo se usó para realizar la validación en sedimentos y suelos, el cual tiene su propio certificado (Ver Anexo X).

El Material de Referencia para sedimentos y suelos se digesto con el método EPA 3050 “Acid Digestion of sediments, Sludges and Soils” (Ver Anexo XI), se utilizó una solución de ácido nítrico al 3% o al 5% ya que no representa una diferencia significativa y las dos soluciones cumplen con el propósito de mantener en solución a los analitos metálicos para su análisis posterior.

Objetivos de la validación

Los objetivos de validación se establecieron en función de los siguientes criterios:

El % de 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 Ba en aguas, el Acuerdo Ministerial 097 A tabla 2: “Criterios de calidad admisibles para la preservación de la vida acuática y silvestre en aguas dulces, marinas y de estuario” indica un valor máximo de 1,0 mg/L por lo cual se establece como límite de detección un valor inferior al 50% es decir 0,5 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 el caso del suelo el AM 097 A tabla 1: “Criterios de calidad del suelo” indica un valor máximo de 200 mg/kg.

Para el Plomo en aguas el AM 097 A tabla 2 indica un valor máximo de 0,001 mg/L por lo cual se fija el límite de detección un valor inferior al 50% es decir 0,0005 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 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.

Se usó la Normativa Ecuatoriana para aguas, suelos y en el caso de los sedimentos se trabajó con la media de la Normativa Internacional porque el Ecuador no cuenta con normativa aplicable para sedimentos.

Tabla IV: Parámetros de la validación analítica y objetivos para Bario

Objetivos de validación Bario	Parámetros	Aguas (mg/L)	Suelos (mg/kg)
		AM 097 A Aguas Tabla 2	AM 097 A Suelos Tabla 1
	% Recuperación	90-110	90-110
	Límite de detección	< 0,5	< 0,5
	Límite de cuantificación	< 1	< 200
	Repetibilidad	>80 %	>80 %
	Intervalo de confianza	+/- 0,5	+/- 0,5

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

Tabla V: Parámetros de la validación analítica y objetivos para Cromo

Objetivos de validación Plomo	Parámetros	Aguas (mg/L)	Suelos (mg/kg)	Sedimentos (mg/kg)
		AM 097 A Aguas Tabla 2	AM 097 A Suelos Tabla 1	Media de la Normativa Internacional
	% Recuperación	90-110	90-110	90-110
	Límite de detección	< 0,5	< 0,5	< 1
	Límite de cuantificación	< 1	< 200	< 200
	Repetibilidad	>80 %	>80 %	>80 %
	Intervalo de confianza	+/- 0,5	+/- 0,5	+/- 1

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

Tabla VI: Parámetros de la validación analítica y objetivos para Plomo

Objetivos de validación Plomo	Parámetros	Aguas (mg/L)	Suelos (mg/kg)	Sedimentos (mg/kg)
		AM 097 A Aguas Tabla 2	AM 097 A Suelos Tabla 1	Media de la Normativa Internacional
	% Recuperación	90-110	90-110	90-110
	Límite de detección	< 0,0005	< 1	< 0,5
	Límite de cuantificación	< 0,001	< 19	< 35
	Repetibilidad	>80 %	>80 %	>80 %
	Intervalo de confianza	+/- 0,0005	+/- 0,5	+/- 0,5

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

Tabla VII: Parámetros de la validación y objetivos para Vanadio

Objetivos de validación Vanadio	Parámetros	Aguas (mg/L)	Suelos (mg/kg)
		RAOH 1215 Tabla 4 a	AM 097 A Suelos Tabla 1
	% Recuperación	90-110	90-110
	Límite de detección	< 0,5	< 0,5
	Límite de cuantificación	< 1	< 76
	Repetibilidad	> 80 %	> 80 %
	Intervalo de confianza	+/- 0,5	+/- 0,5

Fuente: Autor, Acuerdo Ministerial 097 A, RAOH 1215, EPA, Normativa Canadá CCME

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinación de Bario en aguas, suelos y sedimentos

En la Tabla VIII se muestran los datos primarios que se usaron para realizar la respectiva validación analítica de Bario en aguas, suelos y sedimentos de las muestras de la Reserva Biológica de Limoncocha.

Tabla VIII: Datos primarios para validación de Ba en aguas, suelos y sedimentos

Fecha	Muestra Problema (K) Bario			Estándar (26mg/L)- (26mg/kg)	Blanco (mg/L) – (mg/kg)
	Aguas (mg/L)	Suelos (mg/kg)	Sedimentos (mg/kg)		
24/05/2017	1.088	56.050	13.050	26.332	0.157
24/05/2017	1.091	57.075	12.900	26.558	0.164
25/05/2017	1.165	56.250	12.675	26.613	0.163
25/05/2017	1.119	56.525	13.050	26.153	0.167
26/05/2017	1.198	55.625	13.050	26.181	0.161
26/05/2017	1.158	56.475	12.725	26.352	0.158
29/05/2017	1.115	56.400	13.025	26.258	0.154
29/05/2017	1.147	55.175	12.075	26.612	0.161
30/05/2017	1.161	55.325	13.050	26.155	0.153
30/05/2017	1.102	56.050	12.700	26.181	0.169

Fuente: Autor

La Figura II muestra la curva de calibración para Bario sobre la cual se trabajó en el equipo de Espectrofotometría de absorción atómica con llama (EAA), para poder realizar la validación de Ba en las diferentes muestras.

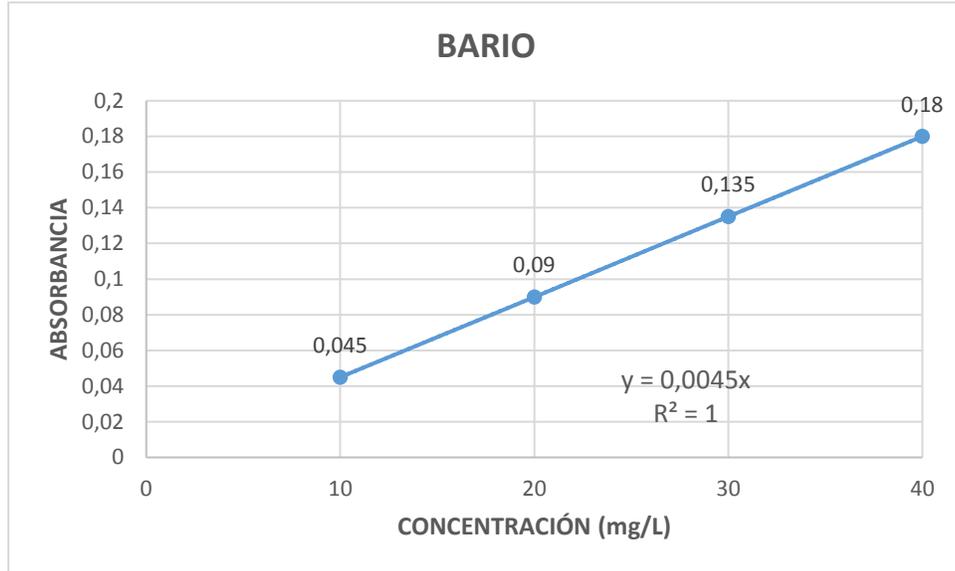


Figura II. Curva de calibración para Ba

En el caso de Bario en aguas se llevó a cabo la validación con estándares de: 10, 20, 30, 40 mg/L y se obtuvo la curva de calibración con un coeficiente de correlación igual a 1, siendo $y=0.0045x$ la ecuación de la recta; una vez realizada la validación analítica se obtuvieron los siguientes resultados: una recuperación del 100,688% encontrándose dentro del rango de aceptabilidad 90-110%, el límite de detección fue de 0,177 mg/L, el límite de cuantificación fue de 0,213 mg/L, el porcentaje de repetibilidad igual al 97% y un intervalo de confianza de $\pm 0,021$ (Tabla IX).

En el caso de Bario en suelos se llevó a cabo la validación con estándares de: 10, 20, 30, 40 mg/kg y se obtuvo la curva de calibración con un coeficiente de correlación igual a 1, siendo $y=0.0045x$ la ecuación de la recta; una vez realizada la validación analítica se obtuvieron los siguientes resultados: una recuperación del 100,688% encontrándose dentro del rango de aceptabilidad 90-110%, el límite de detección fue de 0,177 mg/kg, el límite de cuantificación fue

de 0,213 mg/kg, el porcentaje de repetibilidad igual al 99% y un intervalo de confianza de +/- 0,339 (Tabla IX).

En el caso de Barrio en sedimentos se llevó a cabo la validación con estándares de: 10, 20, 30, 40 mg/kg y se obtuvo la curva de calibración con un coeficiente de correlación igual a 1, siendo $y=0.0045x$ la ecuación de la recta; una vez realizada la validación analítica se obtuvieron los siguientes resultados: una recuperación del 100,688% encontrándose dentro del rango de aceptabilidad 90-110%, el límite de detección fue de 0,177 mg/kg, el límite de cuantificación fue de 0,213 mg/kg, el porcentaje de repetibilidad igual al 98% y un intervalo de confianza de +/- 0,179 (Tabla IX).

Tabla IX: Resultados de la validación de Ba en aguas, suelos y sedimentos

PARÁMETROS	AGUAS (mg/L)	OBJETIVOS	SUELOS (mg/kg)	OBJETIVOS	SEDIMENTOS (mg/kg)	OBJETIVOS
MUESTRA	Río Napo (02-16)		Pozo Antiguo 1 (04-12-15)		Río Napo (04-12-15)	
% DE RECUPERACIÓN	101.306	90-110 %	101.306	90-110 %	100.608	-
LIMITE DE DETECCIÓN	0.177	< 0,5	0.177	< 0,5	0.177	-
LIMITE DE CUANTIFICACIÓN	0.213	< 1	0.213	< 200	0.213	-
% DE REPETIBILIDAD	97	> 80 %	99	> 80 %	98	-
INTERVALO DE CONFIANZA	+/- 0.021	+/- 0,5	+/- 0.339	+/- 0,5	+/- 0.179	-
MATERIAL DE REFERENCIA	-	-	98.959	90-110 %	98.959	90-110 %

Fuente: Autor

Determinación de Cromo en aguas, suelos y sedimentos

En la Tabla X se muestran los datos primarios que se usaron para realizar la respectiva validación analítica de Cromo en aguas, suelos y sedimentos de las muestras de la Reserva Biológica de Limoncocha.

Tabla X: Datos primarios para validación de Cr en aguas, suelos y sedimentos

Fecha	Muestra Problema (K) Cromo			Estándar (3,5mg/L)- (3,5mg/kg)	Blanco (mg/L) - (mg/kg)
	Aguas (mg/L)	Suelos (mg/kg)	Sedimentos (mg/kg)		
26/06/2017	0.0056	1.782	1.768	3.678	0.157
26/06/2017	0.0044	1.755	1.756	3.567	0.164
27/06/2017	0.0051	2.058	1.850	3.456	0.163
27/06/2017	0.0048	1.773	1.925	3.652	0.167
28/06/2017	0.0050	1.788	1.800	3.531	0.161
28/06/2017	0.0051	1.780	1.775	3.597	0.158
29/06/2017	0.0044	2.028	1.750	3.421	0.154
29/06/2017	0.0056	1.783	2.000	3.567	0.161
30/06/2017	0.0049	2.050	1.775	3.678	0.153
30/06/2017	0.0050	1.778	1.750	3.597	0.169

Fuente: Autor

La Figura III muestra la curva de calibración para Cromo sobre la cual se trabajó en el equipo de Espectrofotometría de absorción atómica con llama (EAA), para poder realizar la validación de Cr en las diferentes muestras.

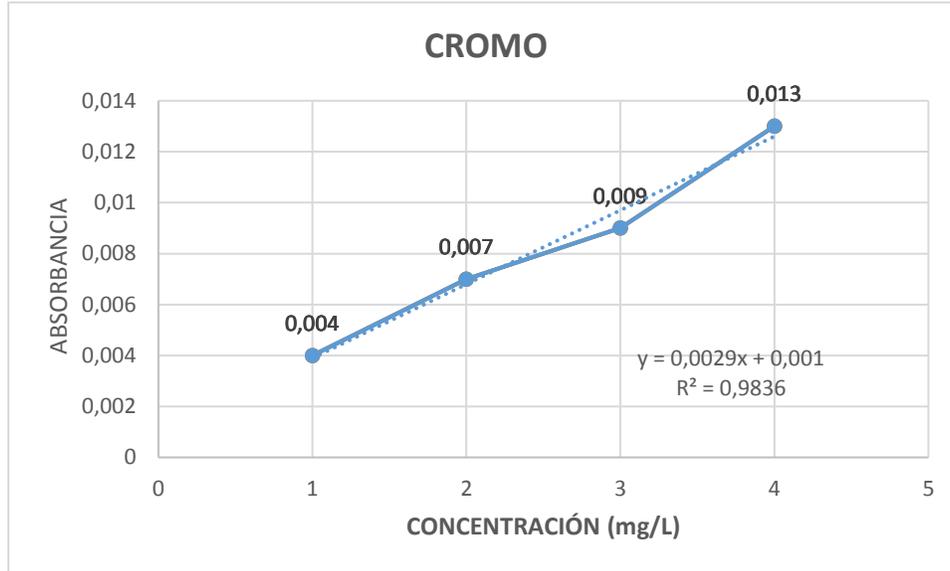


Figura III. Curva de calibración para Cr

En el caso de Cromo en aguas se llevó a cabo la validación con estándares de: 1, 2, 3, 4 mg/L y se obtuvo la curva de calibración con un coeficiente de correlación igual a 0,9836, siendo $y=0.0029x+0,001$ la ecuación de la recta; una vez realizada la validación analítica se obtuvieron los siguientes resultados: una recuperación del 97,534% encontrándose dentro del rango de aceptabilidad 90-110%, el límite de detección fue de 0,177 mg/L, el límite de cuantificación fue de 0,213 mg/L, el porcentaje de repetibilidad igual al 93% y un intervalo de confianza de +/- 0,075 (Tabla XI).

En el caso de Cromo en suelos se llevó a cabo la validación con estándares de: 1, 2, 3, 4 mg/kg y se obtuvo la curva de calibración con un coeficiente de correlación igual a 0,9836, siendo $y=0.0029x+0,001$ la ecuación de la recta; una vez realizada la validación analítica se obtuvieron los siguientes resultados: una recuperación del 97,534% encontrándose dentro del rango de aceptabilidad 90-110%, el límite de detección fue de 0,177 mg/kg, el límite de cuantificación fue

de 0,213 mg/kg, el porcentaje de repetibilidad igual al 93% y un intervalo de confianza de +/- 0,075 (Tabla XI).

En el caso de Cromo en sedimentos se llevó a cabo la validación con estándares de: 1, 2, 3, 4 mg/kg y se obtuvo la curva de calibración con un coeficiente de correlación igual a 0,9836, siendo $y=0.0029x+0,001$ la ecuación de la recta; una vez realizada la validación analítica se obtuvieron los siguientes resultados: una recuperación del 97,534% encontrándose dentro del rango de aceptabilidad 90-110%, el límite de detección fue de 0,177 mg/kg, el límite de cuantificación fue de 0,213 mg/kg, el porcentaje de repetibilidad igual al 95% y un intervalo de confianza de +/- 0,049 (Tabla XI).

Tabla XI: Resultados de la validación de Cr en aguas, suelos y sedimentos

PARÁMETROS	AGUAS (mg/L)	OBJETIVOS	SUELOS (mg/kg)	OBJETIVOS	SEDIMENTOS (mg/kg)	OBJETIVOS
MUESTRA	Caño (2015)		Pozo Antiguo (09-16)		Caño (01-17)	
% DE RECUPERACIÓN	102.126	90-110	97.534	90-110	97.534	90-110
LIMITE DE DETECCIÓN	0.014	< 0,5	0.177	< 1	0.177	< 1
LIMITE DE CUANTIFICACIÓN	0.021	< 0,032	0.213	< 54	0.213	< 36,79
% DE REPETIBILIDAD	92	> 80 %	93	> 80 %	95	> 80 %
INTERVALO DE CONFIANZA	+/- 0.021	+/- 0,5	+/- 0.075	+/- 1	+/- 0.049	+/- 1
MATERIAL DE REFERENCIA	-	-	98.4	90-110 %	95.332	90-110 %

Fuente: Autor

Determinación de Plomo en aguas, suelos y sedimentos

En la Tabla XII se muestran los datos primarios que se usaron para realizar la respectiva validación analítica de Plomo en aguas, suelos y sedimentos de las muestras de la Reserva Biológica de Limoncocha.

Tabla XII: Datos primarios para validación de Pb en aguas, suelos y sedimentos

Fecha	Muestra Problema (K) Plomo			Estándar (16mg/L)-(16mg/kg)	Blanco (mg/L) – (mg/kg)
	Aguas (mg/L)	Suelos (mg/kg)	Sedimentos (mg/kg)		
02/05/2017	0.230	5.750	8.15	16.498	0.006
02/05/2017	0.223	5.600	8.300	16.976	0.005
03/05/2017	0.225	5.450	8.450	16.806	0.002
03/05/2017	0.231	5.700	8.300	16.445	0.005
04/05/2017	0.229	5.650	8.400	16.335	0.002
04/05/2017	0.227	5.800	8.350	16.691	0.002
05/05/2017	0.230	5.550	8.250	16.872	0.004
05/05/2017	0.229	5.850	8.200	16.896	0.009
06/05/2017	0.228	5.950	8.150	16.872	0.003
06/05/2017	0.231	5.450	8.250	16.896	0.002

Fuente: Autor

La Figura IV muestra la curva de calibración para Plomo sobre la cual se trabajó en el equipo de Espectrofotometría de absorción atómica con llama (EAA), para poder realizar la validación de Pb en las diferentes muestras.

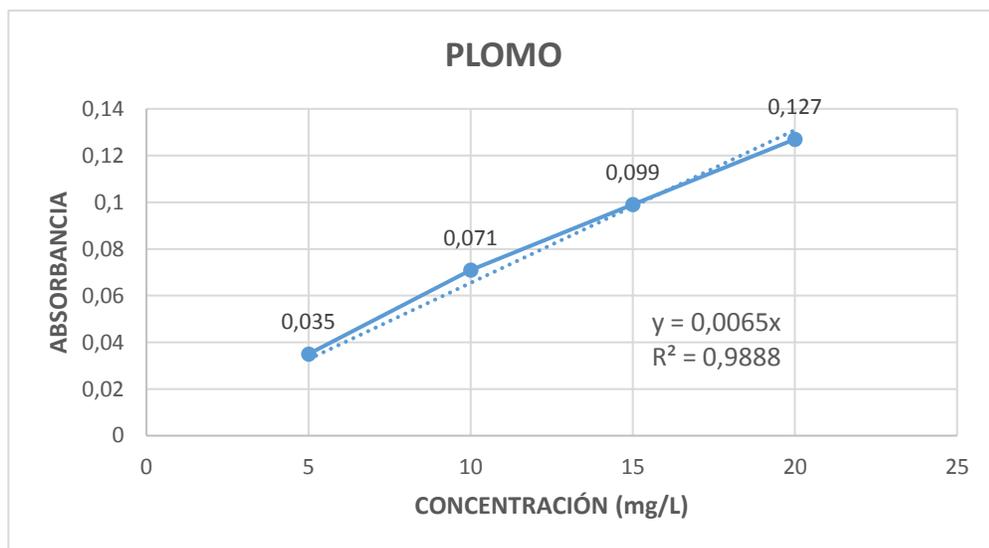


Figura IV. Curva de calibración para Pb

En el caso de Plomo en aguas se llevó a cabo la validación con estándares de: 5, 10, 15, 20 mg/L y se obtuvo la curva de calibración con un coeficiente de correlación igual a 0,988, siendo $y=0,0065x$ la ecuación de la recta; una vez realizada la validación analítica se obtuvieron los siguientes resultados: una recuperación del 104,401% encontrándose dentro del rango de aceptabilidad 90-110%, el límite de detección fue de 0,031 mg/L, el límite de cuantificación fue de 0,046 mg/L, el porcentaje de repetibilidad igual al 99% y un intervalo de confianza de $\pm 0,002$ (Tabla XIII).

En el caso de Plomo en suelos se llevó a cabo la validación con estándares de: 5, 10, 15, 20 mg/kg y se obtuvo la curva de calibración con un coeficiente de correlación igual a 0,988, siendo $y=0,0065x$ la ecuación de la recta; una vez realizada la validación analítica se obtuvieron los siguientes resultados: una recuperación del 104,529% encontrándose dentro del rango de aceptabilidad 90-110%, el límite de detección fue de 0,011 mg/kg, el límite de cuantificación fue de 0,027 mg/kg, el porcentaje de repetibilidad igual al 97% y un intervalo de confianza de $\pm 0,097$ (Tabla XIII).

En el caso de Plomo en sedimentos se llevó a cabo la validación con estándares de: 5, 10, 15, 20 mg/kg y se obtuvo la curva de calibración con un coeficiente de correlación igual a 0,988, siendo $y=0,0065x$ la ecuación de la recta; una vez realizada la validación analítica se obtuvieron los siguientes resultados: una recuperación del 104,529% encontrándose dentro del rango de aceptabilidad 90-110%, el límite de detección fue de 0,011 mg/kg, el límite de cuantificación fue de 0,027 mg/kg, el porcentaje de repetibilidad igual al 99% y un intervalo de confianza de $\pm 0,058$ (Tabla XIII).

Tabla XIII: Resultados de la validación de Pb en aguas, suelos y sedimentos

PARÁMETROS	AGUAS (mg/L)	OBJETIVOS	SUELOS (mg/kg)	OBJETIVOS	SEDIMENTOS (mg/kg)	OBJETIVOS
MUESTRA	Río Playayacacu (21-01-17)		Blanco (19-11-16)		Zona Profunda (03-17)	
% DE RECUPERACIÓN	104.401	90-110	104.529	90-110	104.529	90-110
LÍMITE DE DETECCIÓN	0.031	< 0,0005	0.011	< 1	0.011	< 0,5
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	0.046	< 0,001	0.027	< 19	0.027	< 35
% DE REPETIBILIDAD	99	> 80 %	97	> 80 %	99	> 80 %
INTERVALO DE CONFIANZA	+/- 0.002	+/- 0,0005	+/- 0.097	+/- 0,5	+/- 0.058	+/- 0,5
MATERIAL DE REFERENCIA	-	-	100.526	90-110 %	101.143	90-110 %

Fuente: Autor

Determinación de Vanadio en aguas, suelos y sedimentos

En la Tabla XIV se muestran los datos primarios que se usaron para realizar la respectiva validación analítica de Vanadio en aguas, suelos y sedimentos de las muestras de la Reserva Biológica de Limoncocha.

Tabla XIV: Datos primarios para validación de Va en aguas, suelos y sedimentos

Fecha	Muestra Problema (K) Vanadio			Estándar (2,5mg/L)- (2,5mg/kg)	Blanco (mg/L) - (mg/kg)
	Aguas (mg/L)	Suelos (mg/kg)	Sedimentos (mg/kg)		
10/07/2017	0.024	30.850	3.525	2.562	0.157
10/07/2017	0.041	31.300	2.525	2.594	0.164
11/07/2017	0.028	29.265	2.900	2.639	0.163
11/07/2017	0.032	30.525	3.150	2.615	0.167
12/07/2017	0.094	31.275	2.850	2.554	0.161
12/07/2017	0.016	32.000	3.275	2.578	0.158
13/07/2017	0.073	30.500	2.625	2.632	0.154
13/07/2017	0.065	31.450	3.050	2.543	0.161
14/07/2017	0.090	29.875	2.850	2.569	0.153
14/07/2017	0.087	29.575	3.150	2.564	0.169

Fuente: Autor

La Figura V muestra la curva de calibración para Vanadio sobre la cual se trabajó en el equipo de Espectrofotometría de absorción atómica con llama (EAA), para poder realizar la validación de V en las diferentes muestras.

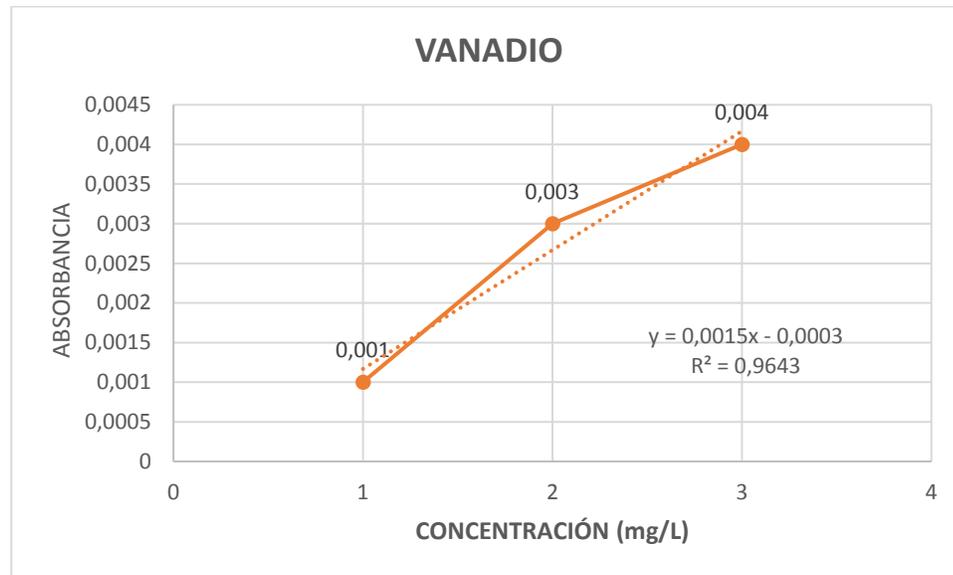


Figura V. Curva de calibración para V

En el caso de Vanadio en aguas se llevó a cabo la validación con estándares de: 1, 2, 3 mg/L y se obtuvo la curva de calibración con un coeficiente de correlación igual a 0,9643, siendo $y=0,0015x-0,0003$ la ecuación de la recta; una vez realizada la validación analítica se obtuvieron los siguientes resultados: una recuperación del 103,400% encontrándose dentro del rango de aceptabilidad 90-110%, el límite de detección fue de 0,108 mg/L, el límite de cuantificación fue de 0,238 mg/L, el porcentaje de repetibilidad igual al 97% y un intervalo de confianza de $\pm 0,021$ (Tabla XV).

En el caso de Vanadio en suelos se llevó a cabo la validación con estándares de: 1, 2, 3 mg/kg y se obtuvo la curva de calibración con un coeficiente de correlación igual a 0,9643, siendo $y=0,0015x-0,0003$ la ecuación de la recta; una vez realizada la validación analítica se obtuvieron

los siguientes resultados: una recuperación del 101,308% encontrándose dentro del rango de aceptabilidad 90-110%, el límite de detección fue de 0,108 mg/kg, el límite de cuantificación fue de 0,238 mg/kg, el porcentaje de repetibilidad igual al 97% y un intervalo de confianza de +/- 0,479 (Tabla XV).

En el caso de Vanadio en sedimentos se llevó a cabo la validación con estándares de: 1, 2, 3 mg/kg y se obtuvo la curva de calibración con un coeficiente de correlación igual a 0,9643, siendo $y=0,0015x-0,0003$ la ecuación de la recta; una vez realizada la validación analítica se obtuvieron los siguientes resultados: una recuperación del 101,308% encontrándose dentro del rango de aceptabilidad 90-110%, el límite de detección fue de 0,108 mg/kg, el límite de cuantificación fue de 0,238 mg/kg, el porcentaje de repetibilidad igual al 90% y un intervalo de confianza de +/- 0,175 (Tabla XV).

Tabla XV: Resultados de la validación de V en aguas, suelos y sedimentos

PARÁMETROS	AGUAS (mg/L)	OBJETIVOS	SUELOS (mg/kg)	OBJETIVOS	SEDIMENTOS (mg/kg)	OBJETIVOS
MUESTRA	Muelle (03)		Playayacu (29-09-16)		Pozo Jivino (23-09-16)	
% DE RECUPERACIÓN	103.400	90-110	101.308	90-110	101.308	-
LIMITE DE DETECCIÓN	0.108	< 0,5	0.108	< 0,5	0.108	-
LIMITE DE CUANTIFICACIÓN	0.238	< 1	0.238	< 76	0.238	-
% DE REPETIBILIDAD	97	> 80 %	97	> 80 %	90	-
INTERVALO DE CONFIANZA	+/- 0.021	+/- 0,5	+/- 0.479	+/- 0,5	+/- 0.058	-
MATERIAL DE REFERENCIA	-	-	98.385	90-110 %	98.385	90-110 %

Fuente: Autor

CONCLUSIONES

- La metodología planteada y desarrollada para la validación de Ba, Cr, Pb y V en aguas, suelos y sedimentos de la RBL, resultó eficaz, ya que se pudo validar los cuatro metales y compararlos con la Normativa Ecuatoriana vigente.
- Se analizaron todos los parámetros estipulados y requeridos en la validación analítica de bario, cromo, plomo y vanadio en aguas, suelos y sedimentos, también se logró cumplir con todos los objetivos que fueron planteados desde el inicio. Además que todos los resultados fueron comparados con la normativa vigente Ecuatoriana (AM 097 A) para aguas, suelos y sedimentos se usó Normativa Internacional.
- Se obtuvo el % de recuperación usando material de referencia para suelos y sedimentos provistos por NIST para cada uno de los metales y se logró una excelente validación con el valor real del mismo. También se puede concluir que el equipo de espectrometría de absorción atómica con llama (EAA) está en óptimas condiciones para uso posterior y el procedimiento del ensayo fue correcto.
- Se determinó que las concentraciones de Bario, Cromo y Vanadio, a diferencia de las concentraciones de Plomo en aguas, no superan los límites permisibles establecidos en la Normativa Legal Ecuatoriana: AM 097 A y RAOH 1215.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agurto, D. (2016). *Evaluación de la concentración de mercurio, aluminio y cobre en aguas, suelos y sedimentos de la Reserva Biológica de imoncocha para establecer la línea base*. Internacional SEK.
- Álvarez, C, Acevedo, R & Severiche, C. (2013). Evaluación analítica para la determinación de aluminio , bario y cromo en aguas , por espectroscopia de absorción atómica con llama óxido nitroso-acetileno, 7, 19–24.
- ASTDR. (2007a). *Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Emfermedades*.
- ASTDR, A. for T. S. and D. R. (2007b). ToxFAQs™ sobre el plomo. *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*, (Vi), 1–2. Retrieved from https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts13.pdf
- Barber, S. (1995). Metales pesado en el suelo, 66–98.
- CENAM (Centro Nacional de Metrología). (2005). Métodos analíticos adecuados a su propósito. *Guía de Laboratorio Para La Validación de Métodos Y Temas Relacionados*, 2, 1–67.
- Ferré, Nuria., Schuhmacher, Marta., Llobet, Juan & Domingo, J. (2007). Metales Pesados y Salud. *Mapfre Seguridad*, 108, 50–58.
- ISO, N. I. (2013). Analisis estadistico y declaración de validación, 1–15. Retrieved from http://www.facatativa-cundinamarca.gov.co/apc-aa-files/37643232356235323930323362656264/ANUARIO_ESTADISTICO_DINAMICA_POBLACIONAL.pdf
- Lilia, A. (2007). *Contaminación ambiental. Origen, clases, fuentes y efectos*.
- MAE. (2011). Plan de manejo de la Reserva Biológica Limoncocha, 1–337.
- MAE. (2015). Reserva Biológica Limoncocha. Retrieved from

- <http://areasprotegidas.ambiente.gob.ec/es/areas-protegidas/reserva-biológica-limoncocha>
- OIE. (2009). Principios y Métodos de Validación de las pruebas de diagnóstico de las enfermedades infecciosas. *Manual Acuático de La OIE*, 1–20.
- Ordoñez, A. (2015). *Biadsorción de Pb y Cr mediante la utilización de cáscara de naranja molida, Machala*. Universidad Técnica de Machala. Retrieved from <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/4485/1/CD00736-2015-TRABAJO COMPLETO.pdf>
- Remache, A. (2013). *Validación De Métodos para el Análisis de Metales En Diferentes Matrices Por Espectrofotometría De Absorción Atómica*. Central del Ecuador. Retrieved from <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/1859/1/T-UCE-0017-39.pdf>
- Reyes, Y., Vergara, I., Torres, O., Díaz, M. &, & González, E. (2016). Contaminación por metales pesados: implicaciones en salud , ambiente y seguridad alimentaria. *Investigacion Y Desarrollo, 16*(2), 66–77.
- Romero, K. (2009). Contaminación Por Metales Pesados. *Revista Científica Ciencia Médica, 12* (1), 45–46.
- Trejos, P. (2008). Validación de la metodología para la determinación cuantitativa de plomo en tintes cosméticos disponibles en el mercado nacional por espectroscopia de absorción atómica con llama, *21*, 42–46.
- UNODC Naciones Unidas. (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, 1*, 76. <https://doi.org/ST/NAR/41>
- Vázquez, M. (2012). *Validación Del Método De Espectrofotometría De Absorción Atómica Electrotermica Para La Determinación De Cobre Y Vanadio En Aguas Limpias Y*

Residuales. Statewide Agricultural Land Use Baseline 2015.

<https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Yaruro, D., Peña, D., Escalante, Y & Hernández, H. (2008). Reducción de la coconcentración de bario, presente en un efluente líquido, mediante extracción no dispersiva en módulos qde fibra hueca. *Dyna*, 75, 133–144.

ANEXOS

Anexo I: Tabla 2: “Criterios de calidad admisibles para la preservación de la vida acuática y silvestre en aguas dulces, marinas y de estuarios”

PARÁMETROS	Expresados como	Unidad	Criterio de calidad	
			Agua dulce	Agua marina y de estuario
Aluminio ⁽¹⁾	Al	mg/l	0,1	1,5
Amoniaco Total ⁽²⁾	NH ₃	mg/l	-	0,4
Arsénico	As	mg/l	0,05	0,05
Bario	Ba	mg/l	1,0	1,0
Berilio	Be	mg/l	0,1	1,5
Bifenilos Policlorados	Concentración de PCBs totales	µg/l	1,0	1,0
Boro	B	mg/l	0,75	5,0
Cadmio	Cd	mg/l	0,001	0,005
Cianuros	CN ⁻	mg/l	0,01	0,01
Cinc	Zn	mg/l	0,03	0,015
Cloro residual total	Cl ₂	mg/l	0,01	0,01
Clorofenoles ⁽³⁾		mg/l	0,05	0,05
Cobalto	Co	mg/l	0,2	0,2
Cobre	Cu	mg/l	0,005	0,005
Cromo total	Cr	mg/l	0,032	0,05
Estaño	Sn	mg/l		2,00
Fenoles monohídricos	Expresado como fenoles	mg/l	0,001	0,001
Aceites y grasas	Sustancias solubles en hexano	mg/l	0,3	0,3
Hidrocarburos Totales de Petróleo	TPH	mg/l	0,5	0,5
Hierro	Fe	mg/l	0,3	0,3
Manganeso	Mn	mg/l	0,1	0,1
Materia flotante de origen antrópico	visible		Ausencia	Ausencia
Mercurio	Hg	mg/l	0,0002	0,0001
Níquel	Ni	mg/l	0,025	0,1
Oxígeno Disuelto	OD	% de saturación	> 80	> 60
Piretroides	Concentración de piretroides totales	mg/l	0,05	0,05
Plaguicidas organoclorados totales	Organoclorados totales	µg/l	10,0	10,0
Plaguicidas organofosforados totales	Organofosforados totales	µg/l	10,0	10,0
Plata	Ag	mg/l	0,01	0,005
Plomo	Pb	mg/l	0,001	0,001
Potencial de Hidrógeno	pH	unidades de pH	6,5 – 9	6,5 – 9,5
Selenio	Se	mg/l	0,001	0,001

“LÍMITES DE DETECCIÓN Y APRECIACIÓN DE Ba, Cr, Pb, V EN AGUAS, SUELOS Y SEDIMENTOS DE LA RESERVA BIOLÓGICA LIMONCOCHA PARA SU VALIDACIÓN ANALÍTICA”

2015 -
2017

Tensoactivos	Sustancias activas al azul de metileno	mg/l	0,5	0,5
Nitritos	NO ₂ ^{<}	mg/l	0,2	
Nitratos	NO ₃ ^{<}	mg/l	13	200
DQO	DQO	mg/l	40	-
DBO5	DBO ₅	mg/l	20	-
Sólidos Suspendidos Totales	SST	mg/l	max incremento de 10% de la condicion natural	-
<p>⁽¹⁾ Aluminio: Si el pH es menor a 6,5 el criterio de calidad será 0,005 mg/l</p> <p>⁽²⁾ Aplicar la Tabla 2a como criterio de calidad para agua dulce</p> <p>⁽³⁾ Si sobrepasa el criterio de calidad se debe analizar el diclorofenol cuyo criterio de calidad es 0,2 ug/l</p>				

Anexo II: Tabla 4a) Límites permisibles para el monitoreo ambiental permanente de aguas y descargas líquidas en la exploración, producción, industrialización, transporte, almacenamiento y comercialización de hidrocarburos y sus derivados, inclusive lavado y mantenimiento de tanques y vehículos.

a) EFLUENTE (punto de descarga)				
Parámetro	Expresado en	Unidad	Valor límite permisible 1)	Promedio anual 2) Destino de descarga
Potencial hidrógeno	pH	---	5<pH<9	5.0<pH<9.0Todos
Conductividad eléctrica	CE	μS/cm	<2500	<2000Continente
Hidrocarburos totales	TPH	mg/l	<20	<15Continente
Hidrocarburos totales	TPH	mg/l	<30	<20Mar abierto
Demanda química de oxígeno	DQO	mg/l	<120	<80Continente
Demanda química de oxígeno	DQO	mg/l	<350	<300Mar abierto
Sólidos totales	ST	mg/l	<1700	<1500Todos
Bario	Ba	mg/l	<5	<3Todos
Cromo (total)	Cr	mg/l	<0.5	<0.4Todos
Plomo	Pb	mg/l	<0.5	<0.4Todos
Vanadio	V	mg/l	<1	<0.8Todos
Nitrógeno global (incluye N orgánico, amoniacal y óxidos) 3)	NH ₄ -N	mg/l	<20	<15 Todos
Fenoles ³⁾		mg/l	<0.15	<0.10Todos

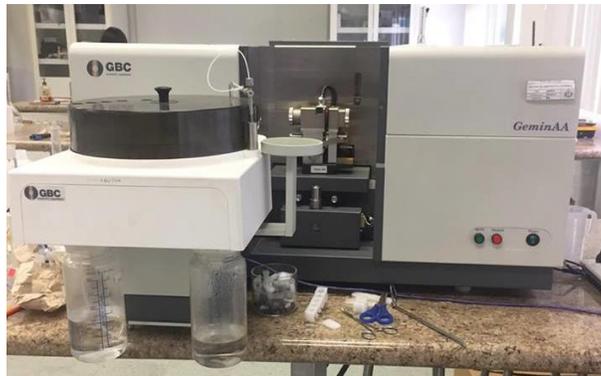
Anexo III: Tabla 1: Criterios de calidad del suelo

Parámetro	Unidades*	Valor
Parámetros Generales		
Conductividad	uS/cm	200
pH		6 a 8
Relación de adsorción de Sodio (Índice SAR)		4*

Parámetros inorgánicos		
Arsénico	mg/kg	12
Azufre (elemental)	mg/kg	250
Bario	mg/kg	200
Boro (soluble en agua caliente)	mg/kg	1
Cadmio	mg/kg	0.5
Cobalto	mg/kg	10
Cobre	mg/kg	25
Cromo Total	mg/kg	54
Cromo VI	mg/kg	0.4
Cianuro	mg/kg	0.9
Estaño	mg/kg	5
Fluoruros	mg/kg	200
Mercurio	mg/kg	0.1
Molibdeno	mg/kg	5
Níquel	mg/kg	19
Plomo	mg/kg	19
Selenio	mg/kg	1
Vanadio	mg/kg	76
Zinc	mg/kg	60

Parámetros orgánicos		
Benceno	mg/kg	0.03
Clorobenceno	mg/kg	0.1
Etilbenceno	mg/kg	0.1
Estireno	mg/kg	0.1
Tolueno	mg/kg	0.1
Xileno	mg/kg	0.1
PCBs	mg/kg	0.1
Clorinados Alifáticos (cada tipo)	mg/kg	0.1
Clorobencenos (cada tipo)	mg/kg	0.05
Hexaclorobenceno	mg/kg	0.05
Hexaclorociclohexano	mg/kg	0.01
Fenólicos no clorinados (cada tipo)	mg/kg	0.1
Clorofenoles (cada tipo)	mg/kg	0.05
Hidrocarburos totales (TPH)	mg/kg	<150
Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) cada tipo	mg/kg	0.1

Anexo IV: Equipo de Espectrofotometría de Absorción atómica de horno de grafito (GFAAS)



Anexo V: Equipo de Espectrofotometría de absorción atómica con llama (EAA)



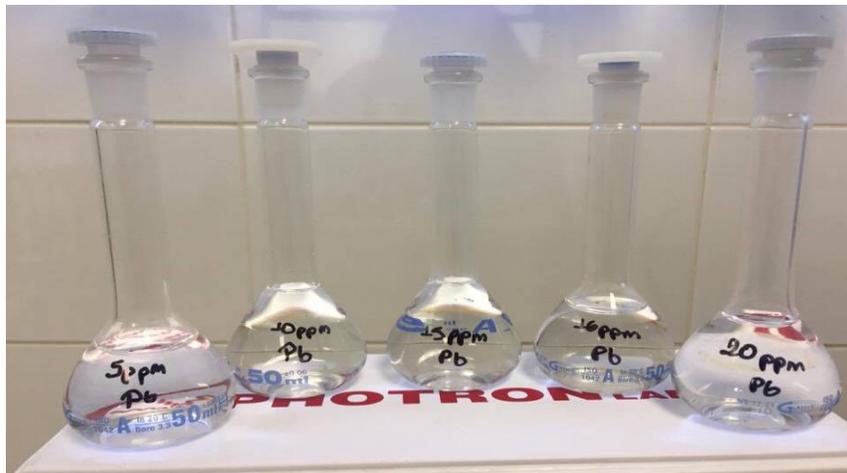
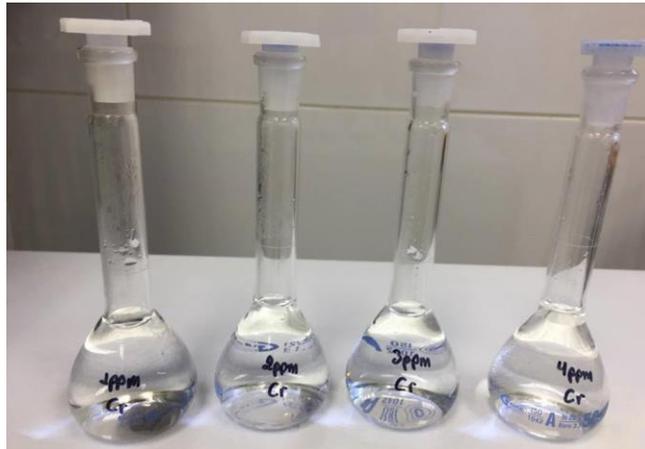
Anexo VI: Material de Referencia para aguas



Anexo VII: Material de Referencia para sedimentos y suelos

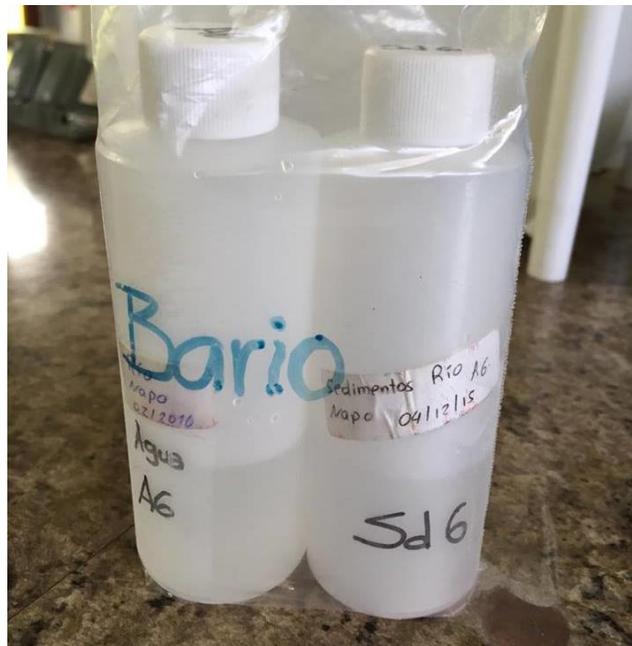


Anexo VIII: Estándares Ba, Cr, Pb y V





Anexo IX: Muestras de Aguas, Suelos y Sedimentos para Ba, Cr, Pb, V





Anexo X: Certificado del Material de Referencia para sedimentos y suelos



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

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

Anexo XI: Método EPA 3050 “Acid Digestion of sediments, Sludges and Soils”

