UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA

CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

PROYECTO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO AMBIENTAL

TEMA:

Propuesta metodológica para la especiación de metales pesados Hg, As, Pb, en aguas superficiales en la provincia de Pastaza.

AUTOR:

Stalin Enrique Rojas Gavilanes

Carlos Omar Sánchez Miranda

DIRECTOR:

Dr. Luis Ramón Bravo Sánchez. PhD

PASTAZA-ECUADOR

2020

DECLARATORIA DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Quienes suscriben, Rojas Gavilanes Stalin Enrique con C.I. 1804884110, Sánchez Miranda Carlos Omar con C.I. 1850269075 hacen constar que son autores del Proyecto de Investigación de Integración Curricular titulado: "**PROPUESTA METODOLÓGICA PARA LA ESPECIACIÓN DE METALES PESADOS Hg, As, Pb, EN AGUAS SUPERFICIALES EN LA PROVINCIA DE PASTAZA",** el cual constituye una elaboración personal realizada únicamente con la dirección del Tutor de dicho trabajo, Dr. Luis Ramón Bravo Sánchez. PhD. En tal sentido, manifiesto la originalidad de la conceptualización del trabajo como interpretación de datos y elaboración de conclusiones dejando establecido que aquellos aportes intelectuales de otros autores se han referenciado debidamente en el texto de dicho trabajo. En el cantón Pastaza, a los 04 días del mes de agosto del 2020.





Rojas Gavilanes Stalin Enrique

CI: 1804884110

Sánchez Miranda Carlos Omar

C.I. 18502690

CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Por medio del presente, Dr. Bravo Sánchez Luis Ramón, PhD, con cédula de identidad No. 1757041452 certifico que, Rojas Gavilanes Stalin Enrique con C.I. 1804884110, Sánchez Miranda Carlos Omar con C.I. 1850269075 egresados de la Carrera de Ingeniería Ambiental de la Universidad Estatal Amazónica, realizaron el Proyecto de investigación titulado: "**PROPUESTA METODOLÓGICA PARA LA ESPECIACIÓN DE METALES PESADOS Hg, As, Pb, EN AGUAS SUPERFICIALES EN LA PROVINCIA DE PASTAZA",** previo a la obtención del título de Ingeniero Ambiental bajo mi supervisión y dirección y que ha sido prolijamente revisado cumpliendo con todos los requisitos y disponibilidades legales establecidas en el Reglamento de Títulos de grado de la Facultad de Ciencias de la Vida de la Universidad Estatal Amazónica, por lo que se autoriza su presentación.



Dr. BRAVO SANCHÉZ LUIS RAMÓN
DIRECTOR DEL PROYECTO

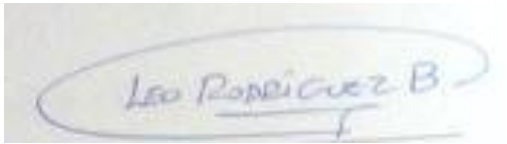
CERTIFICADO DE APROBACIÓN POR EL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

El Tribunal de sustentación del Proyecto de Investigación y Desarrollo aprueba el proyecto de investigación y desarrollo con el tema: **"PROPUESTA METODOLÓGICA PARA LA ESPECIACIÓN DE METALES PESADOS HG, AS, PB, EN AGUAS SUPERFICIALES EN LA PROVINCIA DE PASTAZA"**



Dr. Reinier Abreu Naranjo

PRESIDENTE DE TRIBUNAL



MSc. Leo Rodríguez

Miembro del Tribunal



MSc. Rubén Ledesma

Miembro del Tribunal

CERTIFICADO DE PORCENTAJE DE SIMILITUD OBTENIDO EN EL SISTEMA ANTIPLAGIO URKUND

UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA

SISTEMA ANTIPLAGIO URKUND

Oficio No. 247-SAU-UEA-2020

Puyo, 10 de septiembre de 2020

Por medio del presente **CERTIFICO** que:

El Proyecto de Investigación correspondiente a los egresados ROJAS GAVILANES STALIN ENRIQUE con C.I. 1804884110 y SÁNCHEZ MIRANDA CARLOS OMAR con C.I. 1850269075, con el Tema: **"Propuesta metodológica para la especiación de metales pesados Hg, As, Pb, en aguas superficiales en la provincia de Pastaza"**, de la carrera, Ingenieria Ambiental. Director del proyecto Dr. Luis Ramón Bravo Sánchez PhD., ha sido revisado mediante el sistema antiplagio URKUND, reportando una similitud del 0%, Informe generado con fecha 10 de septiembre de 2020 por parte del director conforme archivo adjunto.

Particular que comunico a usted para los fines pertinentes

Atentamente,

Ing. Italo Marcelo Lara Pilco M.Sc.
ADMINISTRADOR DEL SISTEMA ANTIPLAGIO URKUND – UEA - .

AGRADECIMIENTO

Agradecimiento Stalin Enrique Rojas Gavilanes

Un agradecimiento a Dios por darme la vida y bendecirme en cada paso que doy en el camino de la vida tanto Universitaria como personal, brindándome la fortaleza y no permitiendo que la debilidad caiga sobre mí.

Agradezco a mis padres Enrique y Elizabeth por ser los pilares fundamentales en las enseñanzas a lo largo de mi vida, por su apoyo incondicional, los valores enseñados, la confianza brindada y sobre todo por ese esfuerzo realizado día a día para tener una excelente educación.

Agradezco a mi Hermana, tíos y tías por depositar en mi toda su confianza y motivación a lo largo de la carrera dándome ánimo y fuerza para no caer en cualquier momento de debilidad presentada siendo este uno de los motivos por el cual me encuentro en estas instancias de la vida, en fin un agradecimiento a todos y cada una de las personas que formaron parte de mi camino universitario, amigos que se formaron familia.

Agradecimiento Carlos Omar Sanchez Miranda

Agradezco a Dios, a mi Padre, abuelitos, y tíos que me han acompañado desde el cielo y me han guiado en el transcurso de mi formación como profesional.

Agradezco a mi Madre y a toda mi familia quienes fueron mi fortaleza y guiaron mi camino en mi formación profesional, así como también quiero expresar un agradecimiento fraterno a Dr. Luis Bravo quien aporto con su experiencia y conocimiento como director de tesis y a todos los docentes que aportaron en mi formación ética y profesional durante mi periodo de formación en la Universidad Estatal Amazónica.

RESUMEN

Según se ha investigado, en los últimos años, las técnicas analíticas desarrolladas a nivel mundial sobre la especiación de metales pesados en matrices ambientales y en particular en las aguas, han incluido combinaciones adecuadas de métodos de preparación y tratamiento de muestras con métodos específicos de separación y concentración, lo cual han permitido que, mediante tecnologías avanzadas se pueda mejorar la especificidad, la sensibilidad y disminuir los límites de detección y cuantificación para poder lograr este propósito. La Universidad Estatal Amazónica cuenta con laboratorios equipados con diferentes tecnologías para distintos tipos de investigaciones, sin embargo, aún no se han realizado investigaciones encaminadas a la especiación, debido en parte a su poco incentivo, por no existir regulaciones que obliguen a realizar esta labor y en parte por el desconocimiento de la importancia de determinar especies de metales pesados presentes en aguas superficiales de manera independiente o separada. En este trabajo se establecen y proponen, teniendo en cuenta la tecnología disponible en la institución, y el conocimiento adquirido acerca del análisis de la especiación realizada en otros países del mundo, metodologías, mediante combinaciones inteligentes, para el inicio del análisis de especiación en la universidad, acorde a las posibilidades y explotando de mejor manera los equipos e instrumentos existentes. Cabe recalcar que, para la especiación de plomo, por ejemplo, bajo las condiciones de la UEA, sería factible realizarla combinando adecuadamente una digestión en microondas, la extracción en fase sólida con 8-hidroxiquinolina y la espectrofotometría de absorción atómica con atomización por llama, alcanzando los límites de detección en el orden de las décimas de microgramos por litro de agua.

PALABRAS CLAVE: metales pesados, análisis de aguas, métodos de preconcentración

ABSTRACT

According to researches carried out worldwide, in recent years, concerning to the development of heavy metals speciation analytical techniques on environmental matrices and in particular in waters, have included suitable combinations of preparation methods and treatment of samples with specific methods of separation and concentration, which have made it possible, through advanced technologies, to improve specificity, sensitivity and lower the limits of detection and quantification in order to achieve this purpose. The Amazonian State University has laboratories equipped with different technologies for different types of research, however, research aimed at speciation has not yet been carried out, due in part to its little incentive, because there are no regulations that require this work and partly due to the ignorance of the importance of determining heavy metal species present in surface waters independently or separately. In this work, methodologies are established and proposed, taking into account the technology available in the institution, and the knowledge acquired about the analysis of speciation carried out in other countries of the world, through intelligent combinations, for the beginning of the analysis of speciation in the university, according to the possibilities and exploiting the existing equipment and instruments in a better way. It should be noted that, for lead speciation, for example, under UEA conditions, it would be feasible to carry it out by suitably combining microwave digestion, solid phase extraction with 8-hydroxyquinoline and flame atomization atomic absorption spectrophotometry, reaching the detection limits in the order of tenths of micrograms per liter of water.

KEY WORDS: heavy metals, water analysis, preconcentration methods

TABLA DE CONTENIDO

CAPÍTULO I....1
1. INTRODUCCIÓN....1
1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA....3
1.3. OBJETIVOS....3
1.3.1. Objetivo General....3
1.3.2. Objetivos Específicos....3
1.4. JUSTIFICACIÓN....3
CAPÍTULO II....4
2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA....4
2.1. Especiación química....4
2.2. Métodos de separación y pre concentración para la especiación....4
2.2.1. Extracción en fase sólida (SPE)....4
2.2.2. Extracción líquido - líquido (ELL)....5
2.2.3. Micro extracción en fase sólida en el espacio de cabeza (HS/SPME)....5
2.3. Métodos analíticos que incluyen de separación de compuestos....5
2.3.1. Separaciones no cromatográficas....5
2.3.2. Separaciones cromatográficas....5
2.4. Detección por técnicas atómicas....6
2.4.1. Espectrofotometría de absorción y emisión atómica.....7
2.4.2. Espectroscopia de fluorescencia atómica....7
2.4.3. Espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción....7
2.5. Detección por técnicas basadas en los rayos x....8
2.6. Técnicas electroquímicas....8
2.6.1. Técnicas potenciométricas....8
2.6.2. Técnicas voltamétricas....9
2.7. Parámetros de desempeño de los métodos de especiación....9
2.7.1. Especificidad....9

2.7.2. El límite de detección (LOD) 9
2.7.3. El límite de cuantificación (LOQ) 9
2.8. Metales pesados 9
2.8.1. Plomo 9
2.8.2. Arsénico 10
2.8.3. Mercurio 10
CAPÍTULO III 11
3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN 11
3.1. Localización 11
3.2. Tipo de investigación 12
3.3. Métodos de investigación 12
3.3.1. Análisis bibliográfico las técnicas de especiación de Hg, As, Pb, en aguas superficiales a nivel mundial, regional y local en la última década. 12
3.3.2. Evaluación de la tecnología existente en los laboratorios de la UEA, desde el punto de vista técnico, operativo y de disponibilidad, para el establecimiento de métodos de especiación de los metales pesados Hg, As y Pb. 12
CAPÍTULO IV 14
4. ANÁLISIS DE RESULTADOS 14
4.2. Análisis de la información a nivel mundial local y regional de las técnicas de especiación de Hg, As y Pb. 14
4.2.1. Especiación de mercurio 14
4.2.2. Análisis de la metodología (HS-SPME+GC-MS/MS) para especiación de Hg 15
4.2.3. Especiación de arsénico 16
4.2.4. Análisis de la técnica de absorción atómica con generación de hidruros (HG-AAS) para la especiación de arsénico. 18
4.2.5. Análisis de una técnica alternativa para la especiación de arsénico 18
4.2.6. Especiación de plomo 20
4.2.7. Análisis de la técnica FI-FAAS para la especiación de plomo 20
4.2.8. Especiación simultánea de mercurio, arsénico y plomo 21
4.2.9. Análisis de la técnica HPLC combinada con ICP-MS para la especiación simultánea de Hg, As, Pb. 21
4.3. Evaluación funcional y operativa de los equipos de la Universidad Estatal Amazónica
23

4.4. Análisis técnico de los equipos e instrumentos de la Universidad Estatal Amazónica 24

4.4.1. Lámparas de cátodo hueco de mercurio, arsénico y cromo compatible con EAA Young Lin AAS 8020. 24

4.4.2. Agitador calentador magnético 24

4.4.3. Campana extractora de gases 25

4.4.4. Horno de microondas Milestone Ethos One. 25

4.4.5. Estufa de secado 26

4.4.6. Compresor de aire. 26

4.4.7. Sistema de micro extracción en fase sólida (SPME) con fibras de polidimetilsiloxano 26

4.4.8. Balanza analítica con precisión de 0,1 mg. 27

4.4.9. Espectrofotómetro de absorción atómica (EAA) Young Lin AAS 8020. 27

4.4.10. Cromatografía de gases 27

4.5. Propuestas metodológicas para la especiación de metales pesados en las condiciones de la UEA. 28

4.5.1. Propuesta metodológica para especiación de mercurio 28

4.5.2. Propuesta metodológica para la especiación de Arsénico 30

4.5.3. Propuesta metodológica para la especiación de Plomo mediante (SPE+FAAS). 31

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 34

5.1 Conclusiones 34

5.2. Recomendaciones 35

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 36

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Información resumida de la especiación de mercurio **.....14**

Tabla 2. Información resumida de la especiación de arsénico**. 17**

Tabla 3. Información resumida de la especiación de plomo **.....20**

Tabla 4. Información resumida de la especiación simultanea de Hg, As, Pb**.....21**

Tabla 5. Inventario de equipos del Laboratorio de la Universidad Estatal Amazónica **.....23**

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Ubicacion del area de estudio **.....11**

Figura 3. Sistema HS-SPEM+GC+AAS para la especiación de mercurio **.....28**

Figura 4. Sistema HG-FAAS para la especiación de arsénico **.....30**

Figura 5. Sistema SPE+FAAS para la especiación de plomo **.....32**

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

Si bien se conoce que el agua es el líquido universal para diluir pues también es por donde más desechos contaminantes son vertidos y transportados, entre todos estos contaminantes están los metales pesados para los que una de las formas más usuales de eliminación es por medio de cuerpos hídricos. El origen de estos metales se da de dos formas: natural y antropogénica, entre las naturales se encuentran los minerales o erupciones volcánicas y las antropogénicas son todas las industrias, carreteras y también se pueden encontrar en fertilizantes, lodos residuales etc. (Zúñiga 1999).

Debido a la toxicidad que ocasionan las especies de los metales pesados tales como plomo, arsénico y mercurio, ellos representan un problema enorme para los habitantes que radican cerca de cuerpos hídricos o utilizan las aguas como medio de alimentación. Debido a la elevada toxicidad que pueden llegar a tener estos metales, el impacto que tienen en la salud será severo ya sea por bioacumulación o exposición prolongada, lo que podría desarrollar daños a órganos vitales o a su vez propiciar que se generen células cancerígenas (Yulieth C 2016).

Por otra parte, se encuentra la problemática de que, en el medio acuático, los metales pesados poseen la tendencia, en su mayor parte, a formar asociaciones con sustancias orgánicas o formar especies organometálicas por acción de microorganismos, sobre todo en zonas de poco recambio, o incluso con minerales, de diferentes maneras, como: intercambio iónico o adsorción, ocasionando acumulaciones en el ambiente, sobre todo en los sedimentos de las aguas superficiales pudiendo ocasionar fuertes alteraciones negativas en la cadena trófica (Guerrero 2017).

La toxicidad de los metales pesados no solo tiene que ver con su concentración si no con el tiempo de exposición y la biodisponibilidad; por lo general, un elemento metálico no se encuentra en el ambiente en una única forma química, si no formando parte de diferentes especies orgánicas o inorgánicas, por lo que surge la necesidad de determinar no solo la concentración total del metal sino la concentración de cada una de las especies, conjuntamente con su biodisponibilidad y para eso de deben desarrollar e implementar diferentes técnicas analíticas de especiación para los diferentes metales.

En cuanto al mercurio, su mayor parte puede estar en las aguas en forma de sales mercuriales inorgánicas y compuestos organomercúricos; los compuestos más comunes en el agua superficial son: las especies inorgánicas Hg(II) $Hg(OH)_2$ y HgS y los compuestos organometálicos de metilmercurio CH_3HgCl y CH_3HgOH, cuyas especies poseen una elevada toxicidad (Martínez 2004).

Las formas más frecuentes en las que se encuentra el arsénico en las aguas son, las especies inorgánicas: arsenito y arseniato y, además, las formas orgánicas más frecuentes son ácido monometilarsénico, ácido dimetilarsénico, arsenobetaína , arsenocolina y el óxido de trimetilarsénico (Ibarra 2011).

El agua contaminada con compuestos de plomo procede fundamentalmente de minerales de la industria minera, la presencia de plomo en las aguas también se debe a que este elemento es utilizado en su forma orgánica para la producción de petróleo, siendo esta una de las principales fuentes de contaminación por plomo. Uno de los impactos ambientales principales del plomo es que limita la síntesis clorofílica de las plantas, no obstante, las plantas pueden absorber del suelo altos niveles de plomo, hasta 500 ppm. Los síntomas de la exposición humana al plomo incluyen cólicos, pigmentación de la piel y parálisis. Generalmente, los efectos del envenenamiento por plomo son neurológicos o teratógenos. El plomo orgánico causa necrosis de neuronas. El plomo inorgánico crea degeneración axónica. Las dos especies fundamentales de plomo causan edema cerebral y congestión. Los compuestos orgánicos del plomo se absorben rápidamente y por lo tanto representan un mayor riesgo (Anón 2015).

1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuál sería la metodología de especiación de los metales pesados Hg, As, Pb, más viable para aplicar en las aguas superficiales de la provincia de Pastaza, considerando la tecnología existente en la Universidad Estatal Amazónica?

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. Objetivo General

Proponer una metodología para especiación de metales pesados Hg, As, Pb, en aguas superficiales en la provincia de Pastaza.

1.3.2. Objetivos Específicos

- Analizar a través de la información bibliográfica las técnicas de especiación de Hg, As, Pb, en aguas superficiales aplicadas a nivel mundial, regional y local en la última década.
- Evaluar la tecnología existente en los laboratorios de la Universidad Estatal Amazónica, desde el punto de vista técnico, operativo y de disponibilidad, con vistas a establecer métodos de especiación de los metales pesados mercurio, arsénico y plomo.

1.4. JUSTIFICACIÓN

El problema fundamental para poder hacer especiación es la tecnología disponible en los laboratorios, ya que se necesita de técnicas analíticas específicas que incluyan métodos de pre concentración y técnicas cromatográficas en sus diferentes variantes, con sistemas de detección suficientemente sensibles. Hoy en día la Universidad Estatal Amazónica tiene muchos artículos publicados, relacionados con investigaciones ambientales realizadas en la Amazonia ecuatoriana, sin embargo, aún carece de artículos referentes a la especiación de metales pesados, a pesar de que cuenta con los docentes e investigadores calificados para los estudios mencionados, así como laboratorios equipados adecuadamente para realizar investigaciones sobre especiación en las cuencas de la Amazonía; algunos de los instrumentos más importantes son: absorción atómica, cromatografía de gases y cromatografía líquida de alta eficacia, constatados por las publicaciones que se han realizado por los docentes de la universidad. Nace, entonces, la necesidad de realizar una propuesta metodológica en la cual se establezcan vías para el aprovechamiento de la tecnología

de los laboratorios de la UEA, con vistas a llevar a cabo investigaciones relacionadas con la especiación de los metales Hg, As y Pb. La solución a esta problemática estaría en combinar adecuadamente la instrumentación existente en la UEA con los métodos de tratamiento y de separación y concentración, para llegar a establecer sistemas que permitan analizar las diferentes especies con suficiente sensibilidad y especificidad.

CAPÍTULO II

2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1. Especiación química

La "*International Union of Pure and Applied Chemistry* define la especiación como: "la distribución de un elemento entre especies químicas definidas en un sistema" (IUPAC, 2018). Las especies químicas presentan la composición isotópica natural de cada elemento, determinados estados electrónicos de oxidación y diferentes estructuras moleculares. La especiación es un proceso analítico de identificación o medición de las cantidades de una o varias especies químicas en un analito. Existen dos tipos de especiación: la específica, que hace referencia a formas químicas concretas, mientras que la especiación operacional hace referencia al comportamiento de las especies frente a determinados reactivos (Bravo, 2004).

2.2. Métodos de separación y pre concentración para la especiación

Las bajas concentraciones en la mayor parte de las muestras ambientales hacen necesario utilizar en muchos casos etapas de pre concentración, para alcanzar así niveles de concentración detectables por la técnica analítica seleccionada.

2.2.1. Extracción en fase sólida (SPE)

Constituye una técnica de pre concentración ampliamente utilizada para el aislamiento de determinados analitos y la simplificación de la matriz en muestras con propiedades desfavorables para el análisis directo. La extracción suele llevarse a cabo utilizando un lecho adsorbente particulado situado dentro de columnas de pequeña longitud o bien inmovilizado en forma de disco. En ambas configuraciones, el analito se transfiere desde una fase móvil (gas o líquido) a

una fase sólida, donde quedará retenido. Posteriormente el analito se recupera mediante elución con un líquido o mediante desorción térmica, en el caso de que la fase móvil sea un gas (Díaz, 2013).

2.2.2. Extracción líquido - líquido (ELL)

Una ventaja de esta técnica de separación es que permite aislar los analitos acuosos de manera muy eficiente, extrayéndolos sucesivamente con varias porciones de una fase orgánica renovada y selectiva; resultados similares o superiores se pueden lograr en SPE de una manera más sencilla (Bravo, 2004).

2.2.3. Micro extracción en fase sólida en el espacio de cabeza (HS/SPME)

En esta técnica, una pequeña cantidad de una fase de extracción, adherida a un soporte sólido, es expuesta a la muestra durante un período de tiempo bien establecido, lo cual permite una separación más o menos selectiva de las especies requeridas (Bravo, 2004).

2.3. Métodos analíticos que incluyen de separación de compuestos

La separación de los compuestos puede llevarse a cabo por procedimientos cromatográficos y no cromatográficos, aunque, por lo general, son más poderosas las separaciones cromatográficas. Por este motivo, estas últimas son las técnicas más usuales en el campo de la especiación de metales pesados, aunque existen algunas aproximaciones simples no cromatográficas que pueden ser utilizadas para separar adecuadamente diferentes especies en una muestra dada.

2.3.1. Separaciones no cromatográficas

Electroforesis capilar: se caracteriza por el uso de capilares de diámetros internos muy pequeños. Esto le confiere una elevada eficacia de separación debido a la elevada movilidad electroforética de las especies cargadas, sin embargo, limita su sensibilidad aun realizando un acoplamiento con un detector altamente sensible. El empleo de la electroforesis capilar como técnica de separación suele ir asociada a procesos de pre concentración.

2.3.2. Separaciones cromatográficas

Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC): se utiliza generalmente para separar los componentes de una mezcla. Consiste en dos fases, una estacionaria, que puede ser polar o de baja

polaridad (columna) y una fase móvil orgánica o acuosa. La fase estacionaria puede ser sílica (gel de sílice), para el caso de fases polares o puede ser sílica modificada, que se ha tratado con RMe_2SiCl, en cuyo caso se denomina cromatografía líquida de alta eficacia en fase inversa. La fase móvil actúa de portador de la muestra y como eluyente selectivo que compite en interacción con la fase estacionaria. La disolución de la muestra es inyectada en la fase móvil mediante un dispositivo específico (inyector), que garantiza un volumen exacto. Los componentes de la disolución migran de acuerdo a las interacciones con la fase estacionaria y la solubilidad relativa en la fase móvil. Estas interacciones determinan la separación de los analitos en la muestra (Rodriguez, 2015).

Cromatografía de gases: es una técnica ampliamente utilizada consiste en inyectar una pequeña cantidad de la muestra a separar en una corriente de gas inerte caracterizándose por llevarlos a elevadas temperaturas, la función se basa en que esta corriente de gas atraviesa una columna cromatográfica que separa los componentes de la mezcla por medio de un mecanismo de partición (cromatografía gas-líquido), de adsorción (cromatografía gas-sólido) o en algunos casos por una mezcla de ambos. Los componentes separados eluirán de la columna a intervalos discretos y pasarán a través de algún sistema de detección adecuado, o bien serán dirigidos a un dispositivo de recogida de muestras, es generalmente favorable para especies volátiles y termoestables o especies capaces de formar compuestos volátiles sin cambios incontrolados en los procesos de derivatización / separación (Rodriguez, 2015).

2.4. Detección por técnicas atómicas

Las técnicas atómicas se basan en la utilización de los átomos en estado de vapor y posterior activación por energía electromagnética o energía térmica, determinando la energía absorbida o emitida por los átomos, al pasar a un estado activado o al volver del estado activado, dando espacio a las técnicas de absorción, fluorescencia y emisión atómica. Las similitudes que presentan estas técnicas atómicas son su sensibilidad y selectividad, puesto que, están basadas en transiciones electrónicas de átomos, por lo que dichas transiciones se producen de forma definida para cada átomo. Esta característica facilita la determinación multielemental en una sola muestra prácticamente sin interferencias (Domínguez, Muñoz, y Cedeño 2016).

2.4.1. Espectrofotometría de absorción y emisión atómica.

La espectroscopia de absorción atómica (AAS) y de emisión atómica (AES), son dos técnicas con múltiples aplicaciones, que permiten determinar un amplio número de metales y no metales en prácticamente todo tipo de muestras, considerando que, para ciertos elementos, pueden alcanzar concentraciones inferiores a los $\mu g\ L^{-1}$.

La muestra debe ser, en primer lugar, convertida en vapor atómico por medio de un proceso conocido como atomización; posteriormente, esa muestra atomizada será expuesta a la acción de una fuente de excitación con el objetivo de medir la emisión o absorción que experimentan sus átomos. Inicialmente, los espectros de absorción son más simples que los de emisión por lo que debería ser preferible basar las medidas en la absorción atómica más que en la emisión atómica, aunque en la actualidad es más utilizada la emisión atómica con plasma acoplado por inducción. La matriz en la que se encuentra el elemento puede provocar interferencias, interacciones químicas, una inestabilidad de niveles y de fenómenos anexos que se producen a elevadas temperaturas y que pueden interferir en la medida de la absorbancia (Domínguez et al. 2016).

2.4.2. Espectroscopia de fluorescencia atómica

Este procedimiento es más selectivo y sensible que otras técnicas de espectrometría atómica. Esto se explica por el hecho de que algunos compuestos absorben radiación y a continuación producen fluorescencia de resonancia a una longitud de onda de 253,7 nm, de manera que la cantidad de fluorescencia generada va a depender de la intensidad de la radiación incidente y de la concentración del elemento. Así pues, aumentando la intensidad de la fuente de radiación puede conseguirse un aumento de la fluorescencia e indirectamente una mejora en los límites de detección y cuantificación (Domínguez et al. 2016).

2.4.3. Espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción

La espectrometría de masas es una técnica micro analítica que se utiliza para identificar compuestos desconocidos, cuantificar compuestos conocidos, y para elucidar la estructura y propiedades químicas de las moléculas. Requiere cantidades pequeñas de muestra y obtiene información característica como la masa y algunas veces la estructura del analito (Scai, 2016).

Una de las técnicas atómicas más utilizadas es la espectrometría de masas combinada con la técnica de plasma acoplado por inducción (ICP-MS); esta técnica consiste en la generación de vapor atómico con una fuente energética alta, generación de las especies iónicas M^+ e introducción en un analizador de masas cuadrupolar o en uno de tiempo de vuelo, diferenciando los distintos elementos por su relación masa carga, permitiendo realizar un análisis de la abundancia isotópica de cada elemento. Esta técnica brinda facilidades de ser multielemental y selectiva para cada elemento, ya que la propiedad utilizada es su relación masa carga, que para el caso de átomos monocargados se corresponde con su masa atómica o la masa de cada uno de los isótopos de los átomos (Domínguez et al. 2016).

2.5. Detección por técnicas basadas en los rayos x

Estas técnicas se utilizan recurrentemente para la determinación de metales pesados en muestras ambientales, como polvo atmosférico, aguas o residuos sólidos, mediante la utilización de la fluorescencia de Rayos X, conjuntamente con la utilización de partículas aceleradas, que puede ser la Fluorescencia de rayos X inducida por Protones (PIXE), muy útil en estudios de polvo atmosférico y residuos sólidos. Sin embargo, a pesar de que estas técnicas proporcionan medidas muy sensibles y ventajas de ser no destructivas, también poseen desventajas, ya que por utilizar los electrones internos de los átomos no diferencian estados de oxidación (Domínguez et al. 2016).

2.6. Técnicas electroquímicas

Estas técnicas utilizan el intercambio de electrones en la superficie de un electrodo para provocar una reacción redox, midiendo la intensidad de corriente al potencial de descarga, o el propio potencial de equilibrio, dentro de esta técnica se pueden distinguir las potenciométricas y las voltamperométricas.

2.6.1. Técnicas potenciométricas

Son la base de todos los electrodos selectivos y se basan en la medida del potencial de equilibrio de una reacción redox o potencial de membrana para los electrodos selectivos, o los electrodos de campo; se relacionan a través de la actividad de cada especie medida (Domínguez et al. 2016).

2.6.2. Técnicas voltamétricas

Se basan en la reacción de reducción u oxidación de la especie electroactiva, por medio de la aplicación de un potencial y en la cual se mide la intensidad de corriente generada (Domínguez et al. 2016).

2.7. Parámetros de desempeño de los métodos de especiación

Dentro de los parámetros de desempeño de las técnicas analíticas, como linealidad, precisión, veracidad, sensibilidad, especificidad y límites de detección y cuantificación, para la especiación tienen mayor importancia estos últimos (especificidad y límites de detección y cuantificación), debido a las bajas concentraciones de estos analitos en matrices ambientales y la complejidad de dichas matrices.

2.7.1. Especificidad

Es la capacidad que tiene el método de análisis de determinar cualitativamente o cuantitativamente un analito sin interferencias de los demás componentes de la matriz.

2.7.2. El límite de detección (LOD)

Es la concentración mínima del analito, detectable pero no necesariamente cuantificable, y se determina como la concentración que corresponde a una respuesta analítica igual a tres veces la desviación estándar de un blanco de análisis.

2.7.3. El límite de cuantificación (LOQ)

Es la concentración mínima cuantificable con suficiente precisión y exactitud, y se determina como la concentración que corresponde a una respuesta analítica igual a diez veces la desviación estándar de un blanco de análisis.

2.8. Metales pesados

2.8.1. Plomo

El plomo es otro metal pesado ampliamente distribuido que se acumula fácilmente pero que se excreta con dificultad del organismo vivo. Los compuestos de plomo se utilizan comúnmente

como pigmentos, auxiliares y aditivos. Por ejemplo, el tetraetilo de plomo se ha utilizado como agente antidetonante para la gasolina. El plomo tetraetilo ahora está prohibido en el combustible en todos los países.

El Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente ha demostrado que el plomo orgánico es más dañino que el inorgánico. El plomo como tri- y tetraetil plomo son las dos formas más peligrosas para los humanos. El tetraetil plomo se metaboliza en trietil plomo en el hígado, lo que dificulta la oxidación de la sustancia que suministra energía, la glucosa, en el cerebro. Exposición a largo plazo a incluso cantidades muy pequeñas de compuestos de plomo pueden dañar el sistema digestivo, sistema nervioso, circulatorio y reproductivo y aumentan los riesgos de cáncer y mutagenicidad (Zhang et al. 2020).

2.8.2. Arsénico

Es un elemento extremadamente tóxico y un carcinógeno para el organismo humano. Y no solo en concentraciones altas, donde la exposición causa efectos agudos que pueden llegar a ser letales, sino también tiene efectos negativos crónicos para la salud a través de la ingesta de agua por largos periodos a bajas concentraciones. La toxicidad del arsénico depende del estado de oxidación, estructura química y solubilidad en el medio biológico. La escala de toxicidad de las especies de arsénico decrece en el siguiente orden: Arsina > As^{+3} inorgánico > As^{+3} orgánico > As^{+5} inorgánico > As^{+5} orgánico > compuestos arsenicales y arsénico elemental (Herrera et al. 2014).

2.8.3. Mercurio

Los compuestos de mercurio suelen permanecer en la fase acuosa como moléculas no disociadas, dando lugar a valores bajos de solubilidad. La mayor parte del mercurio presente en el ambiente (exceptuando la atmósfera) se encuentra en forma de sales mercúricas inorgánicas y compuestos organomercúricos. Estos últimos vienen definidos por la presencia de un enlace C-Hg covalente. Así, los compuestos de mercurio más comunes en el ambiente son: las especies inorgánicas de Hg (II) $HgCl_2$, $Hg(OH)_2$ y HgS; los compuestos de metilmercurio CH_3HgCl y CH_3HgOH; y, en menores proporciones, otros organomercuriales como dimetilmercurio o fenilmercurio (Martínez 2004).

CAPÍTULO III

3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Localización

El proyecto va dirigido a la región amazónica, específicamente a la provincia de Pastaza y podrá ser aplicado en los laboratorios de la Universidad Estatal Amazónica (UEA) donde exista equipamiento analítico. La sede central de la UEA se encuentra ubicada en el kilómetro 2 ½ de la vía Puyo a Tena (Paso Lateral) de la ciudad de Puyo, provincia de Pastaza, Ecuador.

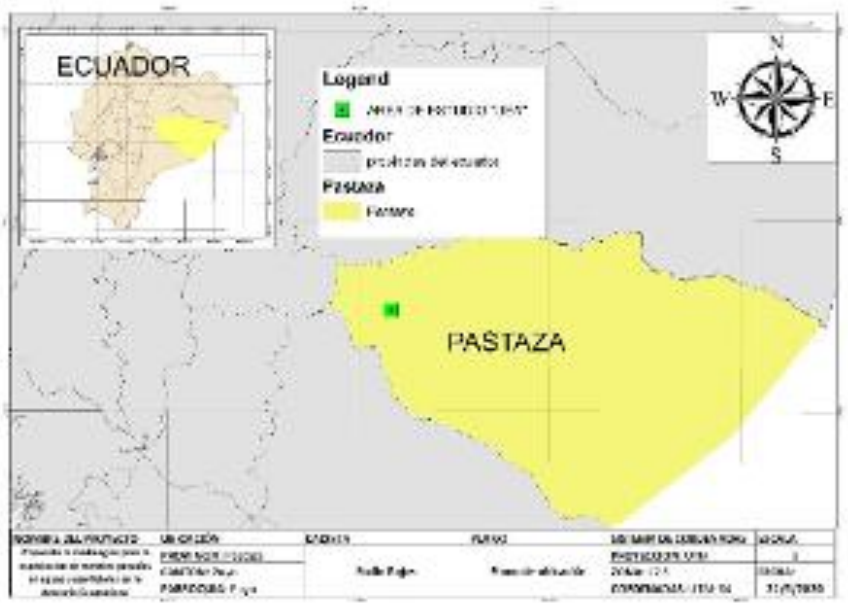


Figura 1 Ubicacion del area de estudio

Elaborado por: Autores

3.2. Tipo de investigación

El presente proyecto será una investigación cualitativa de tipo exploratoria documental. Debido a que la investigación tiene por objeto analizar un tema que a nivel de nuestro país posee limitaciones bibliográficas, debido al poco desarrollo de técnicas para la especiación de metales pesados, se deberá analizar bibliografía a nivel mundial para posteriormente proponer una metodología que sea aplicativa en el Ecuador y específicamente en la provincia de Pastaza, considerando las condiciones técnicas de los laboratorios de la Universidad Estatal Amazónica.

3.3. Métodos de investigación

3.3.1. Análisis bibliográfico las técnicas de especiación de Hg, As, Pb, en aguas superficiales a nivel mundial, regional y local en la última década.

En primer lugar se investigó mediante la base datos Sciencie Direct, Latindex, La Granja, revista científica de la Universidad Politécnica Salesiana indexada a la base de datos Scopus, artículos científicos y/o tesis de relevancia mundial, regional, local, enfocados a la especiación de metales pesados en aguas superficiales: Hg, As, Pb; toda la información recopilada está comprendida en investigaciones realizadas en la última década y que contienen avances significativos en técnicas de especiación. Se realizó un análisis de las técnicas que han presentado alta sensibilidad, bajos niveles de límites de detección y que pudiesen en el futuro ser una alternativa para la especiación de metales pesados en aguas superficiales en la Universidad Estatal Amazónica.

3.3.2. Evaluación de la tecnología existente en los laboratorios de la UEA, desde el punto de vista técnico, operativo y de disponibilidad, para el establecimiento de métodos de especiación de los metales pesados Hg, As y Pb.

Mediante una solicitud a través de la plataforma Microsoft office 365 se solicitó a la Mgs. VIÁFARA BANGUERA DERWIN, técnico docente de la Universidad Estatal Amazónica, información referente acerca de equipos o instrumentos disponibles en los laboratorios de Bromatología y Ambiental de la Universidad Estatal Amazónica y que pudieran ser utilizados para la especiación de metales pesados. Posteriormente, teniendo en cuenta la información suministrada, se evaluó el número de instrumentos, equipos y dispositivos, su disponibilidad, operatividad y funcionalidad mediante un inventario.

El análisis teórico se basó en la información solicitada y ofrecida y se realizó un análisis técnico de cada equipo o instrumento para la identificación de su función y la posible utilización en el desarrollo de técnicas de especiación de mercurio, arsénico y plomo; este análisis se basó en la información bibliográfica previamente revisada.

Para la formulación de las propuestas de especiación de metales pesados en aguas superficiales se consideraron los equipos e instrumentos anteriormente evaluados, así como también las técnicas de especiación que no requieren de una inversión económica considerable, como la base para el desarrollo de propuestas para la especiación de cada metal; estas posibles combinaciones de técnicas de análisis con métodos de tratamiento de muestras y de preconcentración pudieran permitir especiar los tres metales pesados con suficiente sensibilidad y especificidad.

CAPÍTULO IV

4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.2. Análisis de la información a nivel mundial local y regional de las técnicas de especiación de Hg, As y Pb.

4.2.1. Especiación de mercurio

En la tabla 1 se resume la información obtenida para la especiación de mercurio, luego de la revisión y análisis profundo de los artículos encontrados.

Tabla 1. *Información resumida de la especiación de mercurio*

Título del artículo	Metodología	Especies	Límites de detección
Extracción en fase sólida con modificación dispersiva, asistida por ultrasonido, utilizando líquido iónico específico inmovilizado en nanotubos de carbono de paredes múltiples para la especiación y determinación de mercurio en muestras de agua.	Extracción en fase sólida con modificación dispersiva asistida por ultrasonidos (UAS-DM-SPE) que se combinó con espectrometría de absorción atómica de vapor frío (CV-AAS).	Sales de Hg (II) HgO	0.02 - 3.6 µg L^{-1} 0.02 - 3.4 µg L^{-1}
Análisis de especiación ultrasensible de mercurio en aguas por espacio de cabeza microextracción en fase sólida junto con cromatografía de gases- espectrometría de masas triple cuadrupolo.	Microextracción en fase sólida espacio de cabeza (HS-SPME). Cromatografía de gases-Espectrometría de masas de triple cuadrupolo en tándem (GC-MS/MS).	Metilmercurio: MeHg Etilmercurio: EtHg	0.03 ngL^{-1} 6 ngL^{-1}

Combinación de extracción ultrasónica en un medio rico en tensioactivos y destilación para la especiación de mercurio en aguas marinas producidas por petróleo mediante cromatografía de gases espectrometría de fluorescencia atómica de vapor frío.	Extracción asistida por ultrasonido en presencia de surfactante. Destilación, antes de la propilación. Determinación por cromatografía de gases, espectrometría de fluorescencia atómica de vapor frío (GC-CV-AFS)	Hg^{2+} CH_3Hg CH_3CH_2Hg	5.0 pgL^{-1} 8.0 pgL^{-1} 11.0 pgL^{-1}
Especiación de mercurio mediante cromatografía líquida de alta resolución, espectrometría de masas de plasma de acoplamiento inductivo tras el enriquecimiento por óxido de grafeno reducido con magnetita combinado con ditizona.	Extracción magnética en fase sólida. Cromatografía Líquida de Alta Eficacia. Espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción. (MSPE-HPLC-ICP-MS)	IHg MMHg	0.48 ngL^{-1} 0.17 ngL^{-1}
Un nuevo método de digestión de mercurio orgánico en línea combinado con espectrometría de fluorescencia atómica para la especiación automática de mercurio.	Digestión de mercurio orgánico en línea acoplado a Espectrometría de fluorescencia atómica	Hg (II) MeHg	3 ngL^{-1} 3 ngL^{-1}
Columna de intercambio aniónico en línea de preconcentración y alta separación cromatográfica líquida de alto rendimiento con detección de espectrometría de masas de plasma acoplado por inducción para el análisis de especiación de mercurio.	Cromatografía de Líquidos de Alta Eficacia. Espectrometría de masas de plasma acoplado inductivamente.	Hg^{+} MeHg EtHg Hg^{2+}	0.015 ngL^{-1} 0.010 ngL^{-1} 0.009 ngL^{-1} 0.016 ngL^{-1}

Elaborador por: Autores

4.2.2. Análisis de la metodología (HS-SPME+GC-MS/MS) para especiación de Hg

En el año 2019 se desarrolló en China un método para especiar de manera simultánea etil-mercurio, metil-mercurio y mercurio inorgánico (Hg^{+2}), este método combina la micro extracción en fase sólida con espacio de cabeza (HS-SPME) con la cromatografía de gases y la espectrometría de masas triple-cuadrupolo (GC-MS/MS). Esta técnica es utilizada en aguas superficiales, para reducir el costo de análisis de las muestras, se utilizó una fibra de polidimetilsiloxano (PDMS)

para extraer y enriquecer las especies de mercurio inorgánico (Hg^{+2}), esta fibra se utilizó en el proceso de (HS-SPME), después de derivatizar con tetrafenilborato de sodio ($NaBPh_4$) "*in situ*".

Las sustancias utilizadas para el pretratamiento de la muestra fueron: disolución tampón preparada al disolver 32g de acetato de sodio en 90 mL de agua y 10 mL de ácido acético, la disolución madre del alquilmercurio se preparó al diluir la disolución estándar con metanol y la disolución madre del mercurio con agua pura.

El pre tratamiento de los analitos se lo realizó de la siguiente manera: 10 mL de la muestra se colocó en un vial de vidrio el cual contenía 3.9 g de cloruro de sodio expuesto 4 horas a una temperatura 550 C°, previamente se agregaron las disoluciones preparadas, después se procedió a tapar herméticamente el vial para ser agitado a 750 rpm. Posteriormente se insertó la fibra en el vial con una profundidad de 10 mm y se expuso al espacio de cabeza para su extracción, luego la fibra se retiró e introdujo en la entrada de GC para la desorción térmica.

Se han empleado dos tecnologías las cuales en combinación cumplen los objetivos propuestos: la cromatografía de gases con la detección de espectrometría de masa es una de las técnicas más utilizadas para especiación por su facilidad para identificar el tiempo de retención y la relación masa carga y por el otro lado se tiene a la espectrometría de masas de triple cuadropolo, la cual permite monitorear las reacciones múltiples, convirtiéndose en un método muy útil para la determinación de trazas y ultra trazas de especies metálicas en diversas matrices de muestras complejas, debido a su alta especificidad y sensibilidad por seleccionar iones precursores e iones de productos apropiados.

Los límites de detección (LOD) se probaron sobre la base de la monitorización ambiental y las normas técnicas de métodos analíticos de China, los LOD para Hg^{+2}, MeHg y EtHg fueron: 6, 0.03 y 0.03 ng L^{-1} respectivamente. Para una mayor precisión, el análisis de cada muestra tuvo una excelente repetibilidad para seis réplicas y las recuperaciones de todas las especies de mercurio estuvieron en el intervalo de 76.6% -114.8% (Li et al. 2020).

4.2.3. Especiación de arsénico

En la tabla 2 se resume la información obtenida para la especiación de arsénico, luego de la revisión y análisis profundo de los artículos encontrados.

Tabla 2. *Información resumida de la especiación de arsénico.*

Título del artículo	Metodología	Especies	Límites de detección
Desarrollos recientes en la determinación y especiación de arsénico en muestras ambientales y biológicas por espectrometría atómica	LLE, CPE y SPE espectrometría atómica	As (III), As (V), TETRA, TMAO, DMAA	4 μgL^{-1} 0.04 μgL^{-1} 0.04 μgL^{-1}
Micro extracción basada en la solidificación de la gota flotante para la preconcentración y la especiación de especies de arsénico inorgánico en muestras de agua por método de azul de molibdeno	El método se basa en la formación de un complejo de arsenomolibdeno azul seguido por el procedimiento VA-SSM-SFD y la determinación espectrofotométrica posterior en una micro celda.	AS(III), As(V).	0.4 μgL^{-1}
Una micro extracción homogénea automatizada continua, para la determinación de selenio y arsénico por espectrometría de fluorescencia atómica de generación de hidruros	Sistema de espectrometría de fluorescencia atómica de generación de hidruro (HG-AFS)	As (III) Se (IV)	0.01 μgL^{-1} para ambos analitos.
Especiación de arsénico mediante una extracción fácil de doble punto de enturbiamiento junto con espectrometría de emisión óptica de plasma inductiva	Extracción de punto de enturbiamiento dual (dual-CPE) junto con espectrometría de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES).	As (III), As (V)	0.72 $ngmL^{-1}$
Especiación de arsénico en muestras ambientales por generación de hidruros y espectrometría de absorción atómica electro térmica.	HGAAS y ETAAS	As (III), As (V), MMAA, DMAA,	0.07 ngL^{-1} 0.10 ngL^{-1} 0.10 ngL^{-1} 0.1 ngL^{-1}

Elaborador por: Autores

4.2.4. Análisis de la técnica de absorción atómica con generación de hidruros (HG-AAS) para la especiación de arsénico.

En el caso del análisis de especiación de As, la mayoría de las dificultades están relacionadas con el mantenimiento de la estabilidad de las especies de As durante la preparación de la muestra. Algunos estudios recomiendan congelar muestras acuosas a −20ºC. Algunos autores utilizaron ácido ascórbico y HCl para la conservación. El ácido clorhídrico funciona, como conservante para especies As y se prefiere cuando se utiliza HG-AAS.

La falta de selectividad y la sensibilidad insuficiente de algunas técnicas de detección espectrométrica directa para la especiación de As hicieron necesario desarrollar métodos analíticos mediante combinaciones de técnicas de pre concentración, separación, y detección espectrométrica, debido a las diferentes propiedades químicas y físicas de compuestos As. Estas técnicas ya sea por separado o en combinación están sujetas a errores significativos, debido a interferencias derivadas de la presencia de otras sustancias químicas, especialmente cuando el analito está presente a niveles de trazas. Varios métodos con separaciones y preconcentraciones que incluyen extracción líquido-líquido (LLE), extracción del punto de enturbiamiento (CPE), microextracción de fibra en fase líquida (HFLPME) y microextracción fase líquida (LPME) se han aplicado ampliamente a la especiación de As (III) y As (V). Las técnicas acopladas con AAS que tienen una separación altamente eficiente, permiten alcanzar límites de detección muy bajos de alrededor de 1-2 μgL^{-1}(Maity et al. 2012).

La AAS combinada con HG se usa ampliamente para la especiación de As, por su alta sensibilidad, selectividad y bajos LOD (μgL^{-1}), HG-AAS es una técnica más asequible y mucho menos costosa que otras técnicas como ICP-MS para detectar concentraciones de trazas de especiación de As en muestras ambientales. Sin embargo, la técnica de HG depende en gran medida sobre el tipo y la concentración de la matriz de la muestra.

4.2.5. Análisis de una técnica alternativa para la especiación de arsénico

En el año 2019 en la facultad de Química, de la Universidad Bu-Ali Sina, de Irán se desarrolló un método de micro extracción con disolvente supramolecular asistida por vórtice basada en la solidificación de gota flotante (VA-SSME-SFD) para la pre concentración y la determinación

espectrofotométrica de arsénico inorgánico (iAs) en varias muestras de agua. El método se basa en la formación de un complejo de azul de arsenomolibdenio, seguido del procedimiento VA-SSME-SFD y la posterior determinación espectrofotométrica en una micro celda.

Para el procedimiento de micro extracción con disolvente supra molecular asistida por vórtice basada en la solidificación de gota flotante se colocó una parte proporcional de la muestra en un recipiente de 10 mL en un tubo cónico de vidrio y 0,2 mL de reactivo mixto, se añadió a una disolución de 0.5 mol L^{-1} de ácido ascórbico dando un total de disolución de 5mL. Posteriormente, se dejó reposar por 60 min para la formación de heteropoli complejo azul. A continuación, se adicionaron 100 μL de 1-dodecanol y 450 μL de THF en la solución de muestra, utilizando una micro jeringa, la homogenización de la muestra se realizó mediante agitación de vórtice en el lapso de 3 min.

En la disolución acuosa de partida se formaron espontáneamente las supras (disolventes), pasando por un periodo de extracción, se colocó el tubo de ensayo en baño de hielo y entonces las supras se solidificaron en el lapso de 5 min y se fundió inmediatamente después. Luego, se transfirieron 50 μL del extracto a una micro celda de cuarzo utilizando una micro jeringa para posteriormente medir la absorbancia.

Las determinaciones de los As totales se determinaron después de la oxidación del As (III) a As (V) por permanganato de potasio ($KMnO_4$) en condiciones optimizadas. Después de la oxidación, la disolución de la muestra se sometió al método VA-SSME-SFD y el As (III) se determinó restando As (V) del total de As.

La mezcla en vórtice facilitó el fenómeno de coacervación, aceleró la transferencia de masa y mejoró la eficiencia de dispersión de la fase de extracción. Además, SFD omite el tedioso paso de centrifugación y mejora la eficiencia de recolección de la fase de extracción.

El método presentado ofrece ventajas sobresalientes como la simplicidad, alta sensibilidad, buen factor de preconcentración, alta precisión en términos de repetibilidad y reproducibilidad, y respetuoso con el ambiente. Además, el método presenta un límite de detección bajo, de 0.4 μgL^{-1} que es notablemente más bajo que los niveles máximos de contaminantes establecidos por la OMS y US EPA 10 μg L^{-1} en aguas potables (Najafi y Hashemi 2019).

4.2.6. Especiación de plomo

En la tabla 3 se resume la información obtenida para la especiación de arsénico, luego de la revisión y análisis profundo de los artículos encontrados.

Tabla 3. *Información resumida de la especiación de plomo*

Título del artículo	Metodología	Especies	Límites de detección
Determinación de plomo en muestras ambientales y biológicas por espectrometría de fluorescencia atómica acoplada a la generación de hidruros-inyección en flujo	Inyección en flujo (FIA), generación de hidruros (HG), fluorescencia atómica (AFS)	Pb (IV) y Pb (II).	0.03 μgL^{-1} 0.5 μgL^{-1}
Especiación de plomo en aguas superficiales del este Pacifico Norte	Voltamperometría de arrastre anódico de pulso diferencial (DPASV)	Plomo lábil de ASV	5 y 2.5 pM
Análisis de especiación de plomo mediante cromatografía de fase inversa con espectrometría de masas de plasma acoplado inductivamente	(RP-HPLC-ICP-MS)	Pb (II) Cloruro de plomo: trietilo (TEL) trimetilo (TML) tetraetilo (TTEL)	25 μgL^{-1}

Elaborador por: Autores

4.2.7. Análisis de la técnica FI-FAAS para la especiación de plomo

La espectrometría de absorción atómica de llama (FAAS) generalmente no se puede utilizar para determinar trazas de metales pesados en muestras de agua debido a la capacidad de detección insuficiente o a las interferencias de la matriz. Sin embargo, la preconcentración proporciona las ventajas duales de aumentar las concentraciones de analito a niveles medibles y eliminar la matriz potencialmente interferente. Técnicas Automatizadas como la inyección de flujo (FI) son rápidas, económicas y pueden requerir sólo pequeños volúmenes, el sistema de inyección en flujo (FI) se ha acoplado con FAAS para la preconcentración y la eliminación de la matriz, en otros estudios se ha utilizado extracción en fase sólida (SPE) como alternativa para la preconcentración de especies de plomo.

Em algunas publicaciones se explica que muestras de agua y digestiones de vino en ácido nítrico al 10% pueden ser bombeados a través de una columna, que contiene una resina disponible comercialmente (Pb-Spec®), un éter corona inmovilizado con un tamaño de cavidad selectivo para Pb^{2+}. La columna se enjuagó con HNO_3 al 2% y el eluyente, 0,1 $molL^{-1}$ de oxalato de amonio se inyectó a través de una válvula rotativa de seis puertos. El plomo eluido se envió al espectrómetro de absorción atómica de llama. El límite de detección para las muestras de agua, estimado a partir del ruido en la señal obtenida para 250 ml de 10 μgL^{-1} (Bakircioglu et al. 2013).

4.2.8. Especiación simultánea de mercurio, arsénico y plomo

En la tabla 4 se resume la información obtenida para la especiación simultánea de arsénico, mercurio, plomo, luego de la revisión y análisis profundo de los artículos encontrados.

Tabla 4. *Información resumida de la especiación simultanea de Hg, As, Pb*

Título del artículo	Metodología	Elementos a especiar	Especies	Límites de detección
Especiación multielemental simultánea de As, Hg y Pb mediante espectrometría de masas de plasma acoplado inductivamente interconectada con cromatografía líquida de alta eficacia	HPLC con ICP-MS	As	As(III), DMA, MMA y As(v)	0.036- 0.20 μgL^{-1}
		Pb	Pb(II), TML Y TEL	0.023-0.041 μgL^{-1}
		Hg	Hg(II), MeHg, EtHg y PhHg	0.0078-0.14 μgL^{-1}
Especiación de As y Sb en relación con las características físico-químicas de aguas hidrotermales en Java y Bali	SF-ICP-MS acoplado a HPLC	As	As(III), As(V).	0.1 μgL^{-1} 0.2 μgL^{-1}
		Sb	Sb(III), Sb(V)	0.2 μgL^{-1} 0.2 μgL^{-1}

Elaborador por: Autores

4.2.9. Análisis de la técnica HPLC combinada con ICP-MS para la especiación simultánea de Hg, As, Pb.

La investigación tuvo lugar en la Universidad Hangzhou Normal en China y fue publicada en el año 2020 en la cual se establece una metodología de HPLC con ICP-MS para una especiación simultánea de cuatro arsenicales As (III), ácido dimetilarsínico DMA, ácido monometilarsónico

MMA y As (V), cuatro mercuriales Hg (II), MeHg, EtHg y fenilmercurio (PhHg) y tres compuestos principales (Pb (II), trimetil plomo (TML) y trietil plomo (TEL).

La investigación estuvo enfocada en la semilla de loto que puede tener un alto riesgo de contaminación por metales durante el cultivo de loto en estanques y el procesamiento de semillas en plantas alimenticias.

Se recolectaron semillas de loto frescas de los supermercados locales en Hangzhou, se quitaron las cáscaras de semillas de loto para obtener el blanco, posteriormente se homogenizó, embotelló (plástico) y almacenó en un refrigerador a -20 ° C antes del pretratamiento. Se extrajeron 5 muestras de las semillas de loto mediante un limpiador ultrasónico posteriormente tres alícuotas de 5.0 g de cada muestra homogeneizada y 10 mL de disolución (10 g L^{-1}EDTA + 2% metanol + ácido nítrico 5 M) fueron añadidos, consecutivamente en tres tubos de centrifugación de plástico de 50 mL. Los tubos se sometieron a extracción ultrasónica a 40 ° C durante 1 h, seguido de centrifugación a 3500 rpm durante 10 min para aislar cada sobrenadante en un matraz de vidrio de 20 mL. Los sobrenadantes se combinaron y neutralizaron con NH_3 y 10M de H_2O, y luego se filtró a través de una membrana de 0.45 μm. Se enriquecieron las muestras de Pb-Hg (igual a 10 μg kg^{-1}), As (100 μg kg^{-1}).

La separación de especies se dio mediante HPLC, se utilizaron Bases / sales de alquilamonio (TBAH) y aminoácidos (Cys) en las fases móviles para la separación de las especies cabe señalar que Cys es incompatible con el arsenito debido a la interacción As (III) –cisteina (Cys). Por lo tanto, se realizó la separación en dos fases móviles, se introdujo una disolución de TBAH sola para la elución inicial de As (III) y se introdujo la solución TBAH y Cys en la segunda fase móvil. La separación de las especies de As, Hg y Pb se puede lograr en la Columna Diamonsil, C18 de 15 cm.

La detección de las especies se dio mediante ICP-MS los límites de detección fueron 0.036-0.20 para las especies As, 0.023-0.041 para las especies Hg y 0.0076-0.14 μg L^{-1}para especies de Pb.

El método propuesto mejora la eficiencia analítica en al menos tres veces. Este método también se ajusta a los objetivos de la química verde porque reduce los desechos tóxicos y el costo de operación. La semilla de loto demuestra su viabilidad para el análisis de especiación de rutina en

el campo de la comida. El método desarrollado se utilizará para analizar más muestras en los campos alimentario, medioambiental y biológico en un futuro próximo (Zhang et al. 2020).

4.3. Evaluación funcional y operativa de los equipos de la Universidad Estatal Amazónica

En la tabla 5 se resume la información obtenida en función al número de equipos y de su estado operable, funcional.

Tabla 5. *Inventario de equipos del Laboratorio de la Universidad Estatal Amazónica*

EQUIPO	ESTADO	UNIDADES DISPONIBLES
Lámparas de cátodo hueco	Operable/Funcional	1 unidad por cada elemento
Agitador calentador magnético	Operable/Funcional	5 unidades
Campana extractora de gases	Operable/Funcional	1 unidad
Horno de microondas Milestone Ethos One	Operable/Funcional	1 unidad
Estufa de secado	Operable/Funcional	2 unidades
Compresor de aire	Operable/Funcional	1 unidad
Sistema de microextracción en fase sólida (SPME)	Operable/Funcional	1 unidad (con todos sus accesorios)
Balanza analítica con precisión de 0,1 mg	Operable/Funcional	2 unidades
Espectrofotómetro de absorción atómica (EAA)	Operable/Funcional	2 unidades
Cromatógrafo de gases	Operable/Funcional	1 unidad

Elaborador por: Autores

Los equipos e instrumentos existentes en el laboratorio de la UEA permiten realizar especiación de metales pesados en aguas superficiales, sin embargo, para lograr parámetros de desempeño superiores, sería necesario implementar algunos equipos y dispositivos complementarios para lograr el acoplamiento de técnicas. Al momento existe un equipamiento completo para la pre concentración de los analitos en las muestras mediante microextracción en fase sólida, que permite lograr disminuir de manera considerable los límites de detección y cuantificación; para el proceso de separación de especies metálicas derivatizadas, que sean volátiles y termoestables, se dispone de un cromatógrafo de gases y para la detección y cuantificación existe un espectrofotómetro de absorción atómica con las lámparas de cátodo hueco adecuadas y operativas.

La implementación de una bomba peristáltica adicional generaría la posibilidad de aplicar la técnica de especiación de arsénico por generación de hidruros, acoplado a la espectrofotometría de absorción atómica; la puesta a punto de un sistema de extracción en fase sólida permitiría tener más alternativas de pre concentración de muestras. Una bomba peristáltica adicional puede permitir también el establecimiento de un sistema automatizado mediante análisis por inyección en flujo.

4.4. Análisis técnico de los equipos e instrumentos de la Universidad Estatal Amazónica

4.4.1. Lámparas de cátodo hueco de mercurio, arsénico y cromo compatible con EAA Young Lin AAS 8020.

Este dispositivo electrónico es ampliamente utilizado para la especiación de metales como mercurio, arsénico, plomo, constituye una parte fundamental del espectrómetro de absorción atómica, las lámparas de cátodo hueco en su interior se localiza dos filamentos el uno denominado cátodo y el otro ánodo, el cátodo tiene la forma de un cilindro hueco y en el cual en su interior permanece depositado en formaciones de capas el elemento metálico que se va a querer excitar, y el cátodo también está enteramente echo del metal que se quiere analizar (James 2000).

4.4.2. Agitador calentador magnético

En mayo del 2020 un estudio en el cual se aplica una técnica de micro extracción en fase sólida combinado con cromatografía de gases acoplada a plasma inducido por microondas con

espectrometría de emisión atómica para la especiación de hierro orgánico, el equipo agitador calentador magnético es utilizado durante la etapa de extracción de especies, brinda la función de mezclar y regular la temperatura automatizadamente de disolventes, así como también de uno o más solutos mediante un campo magnético, este equipo es utilizado previo a la etapa de pre concentración de las muestras que por lo general se las hacen mediante diferentes técnicas como es la micro extracción en fase sólida (SPME) que se utiliza para compuestos traza y ultra traza, otra técnica es la extracción en fase sólida (SPE) que es una de las más comunes que se utiliza cuando las muestras no presentan condiciones óptimas, esta extracción suele llevarse a cabo utilizando un lecho adsorbente, el analito en esta técnica se transfiere de una fase móvil (gas-líquido) a una fase sólida, por lo mencionado antes, el agitador calentador magnético se considera de gran utilidad en la homogenización de muestras previo a las técnicas mencionadas que se propondrán como parte de la metodología de especiación en la Universidad Estatal Amazónica (Peñalver et al. 2020).

4.4.3. Campana extractora de gases

Una campana extractora de gases está diseñada para captar en su mayoría los gases emitidos por los equipos con los cuales se trabaja, cumpliendo el objetivo de captar antes que los gases se dispersen en el lugar de trabajo, y está constituida de diferentes partes como son boca de captación, un conducto, un sistema extractor y una salida. Estas campanas están situadas en los equipos sobre los Espectrofotómetros de absorción atómica y los Cromatógrafos de gases utilizados para especiar metales que se pueden volatilizar como el mercurio; generalmente, la campana extractora de gases que pertenece al cromatógrafo se la utiliza acoplada al espectrómetro de masas de plasma inductivo ya que esta combinación garantiza que el 100% del analito ingresara al plasma (Chimbo y Ortiz 2012).

4.4.4. Horno de microondas Milestone Ethos One.

El equipo horno microondas se basa específicamente en la digestión ácida, logrando el proceso de cualquier tipo de muestra en frascos cerrados, es por eso que se considera un equipo de importancia para la especiación pues se emplea en la preparación de la muestra para una mayor precisión al momento del análisis, es un equipo el cual podría combinarse con HPLC para una mayor eficiencia al momento del análisis como se menciona en (López, palacios, y Gómez, 1995).

4.4.5. Estufa de secado

La estufa de secado realiza la función de esterilizar o a su vez, de secar los instrumentos utilizados o a utilizarse como son los recipientes de vidrio en el laboratorio de la UEA; será de gran utilidad para la esterilización de los materiales a utilizarse en especiación; dentro de los artículos analizados no se menciona que se haya ocupado este equipo de esterilización, en nuestro caso será de utilidad la esterilización del equipo, pues la presencia de microorganismos puede influir en la interconversión de algunas especies químicas a utilizar en especiación y se realizará con este equipo.

4.4.6. Compresor de aire.

El compresor de aire es un equipo que se utiliza como una bomba para, ya sea, la adición de gases o soluciones a los diferentes equipos de preparación de muestras hasta los análisis de las mismas, en este caso se le coloca asociado al espectrofotómetro de absorción atómica para la llama que utiliza acetileno aire (para el caso del plomo).

4.4.7. Sistema de micro extracción en fase sólida (SPME) con fibras de polidimetilsiloxano

Esta técnica, en comparación con las demás técnicas de pre concentración, presenta una serie de ventajas las cuales se nombrarán a continuación: presenta bajos costos, es una técnica que no requiere altos volúmenes de muestras, puede ser automatizada, cuenta con la ventaja de no necesitar el uso de compuestos orgánicas para lograr la pre concentración de la muestra. Aparte de esto, su diseño lo hace sumamente fácil de transportarlo a cualquier lado donde se desee trabajar haciéndola una técnica adecuada para realizar análisis de campo. Otra característica que beneficia a esta técnica es que se puede realizar con cualquier tipo de muestra ya sea sólida, gaseosa o líquida (Peñalver 2002).

Hoy en día existen fibras con diferentes recubrimientos permitiendo así que la SPME pueda determinar diferentes tipos de compuestos. Cuando recién se realizaron estos tipos de recubrimientos los polidimetilsiloxano fueron los primeros que se comercializaron, pero actualmente los tipos de recubrimiento han tenido un avance notable y ahora ya cuentan con un amplio conjunto de aplicaciones. En cuanto a las fibras de polidimetilsiloxano, este es un polímero líquido que se caracteriza por su espesor, llegaron a ser los más utilizados por que fueron las primeras fibras en introducirse al SPME estas fibras son características y recomendadas para los

analitos de baja polaridad, aunque también se dan casos en los que son usados para analitos que tienen cierta polaridad, como un claro ejemplo de la utilización de esta técnica ha sido la extracción y preconcentración de especies metálicas en muestras de aguas superficiales (Viera y Santana 2015).

4.4.8. Balanza analítica con precisión de 0,1 mg.

La balanza analítica es una herramienta muy importante la cual permite adicionar la cantidad exacta de compuestos para la preparación y análisis de las muestras.

4.4.9. Espectrofotómetro de absorción atómica (EAA) Young Lin AAS 8020.

El objetivo de la espectroscopia de absorción atómica es fundamentalmente la absorción de la radiación de una longitud de onda determinada, la radiación será concentrada de manera focalizada por los átomos que estén cargados a niveles energéticos y la energía que tengan los átomos tendrán un valor en diferencia de los fotones incidentes. Se determinarán los fotones que serán absorbidos según la ley de Beer, la cual dice la relación de las pérdidas de energía de radiación, con la respectiva concentración de las especies absorbentes y con el espesor del contendido del recipiente en el cual se encuentran los átomos absorbentes (James, 2000).

4.4.10. Cromatografía de gases

El cromatógrafo de gases es un equipo en el cual la muestra es volatilizada, la misma es inyectada sobre un mechero en la columna cromatografía, existen dos tipos de cromatografía de gases solido (GSC) y cromatografía de gas líquido (GLC) siendo este uno de los más utilizados y recomendados , cumpliendo la función de separación de especies la cual es recomendable que la ubicación de este equipo sea después de un equipo de pre concentración para posteriormente parar a la detección en la cual con una combinación inteligente de técnicas y equipos lograr mejorar los límites de detección asiendo que la metodología tenga una precisión aceptable con respecto a la respetabilidad y reproducibilidad.

Es una técnica en la cual su objetivo es la separación de las especies existente, en combinación con diferentes técnicas forman una metodología poderosa para especiación, en una publicación en 2019 se lo combino con un Espectrómetro de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-MS) para la especiación del arsénico aparte de otras técnicas y equipos para la preconcentración

dando resultados satisfactorios y aplicables con el fin de mejorar los límites de detección lo establece (Huimin et al. 2019).

4.5. Propuestas metodológicas para la especiación de metales pesados en las condiciones de la UEA.

4.5.1. Propuesta metodológica para especiación de mercurio

Sobre la base de las técnicas de especiación analizadas y los equipos disponibles en los laboratorios de la Universidad Estatal Amazónica, en la figura 2 se propone una metodología para la especiación de mercurio que se basa en la micro extracción en fase sólida en el espacio de cabeza como una técnica de pre concentración, combinado con la cromatografía de gases cumpliendo la función de la separación de las especies y finalmente la espectrometría de absorción atómica en llama para la detección y cuantificación de las mismas, sin embargo una de las combinaciones más frecuentes es la cromatografía de gases (CG) y el acoplamiento final con ICP-MS porque permite el 100% de la introducción de la muestra en el plasma.

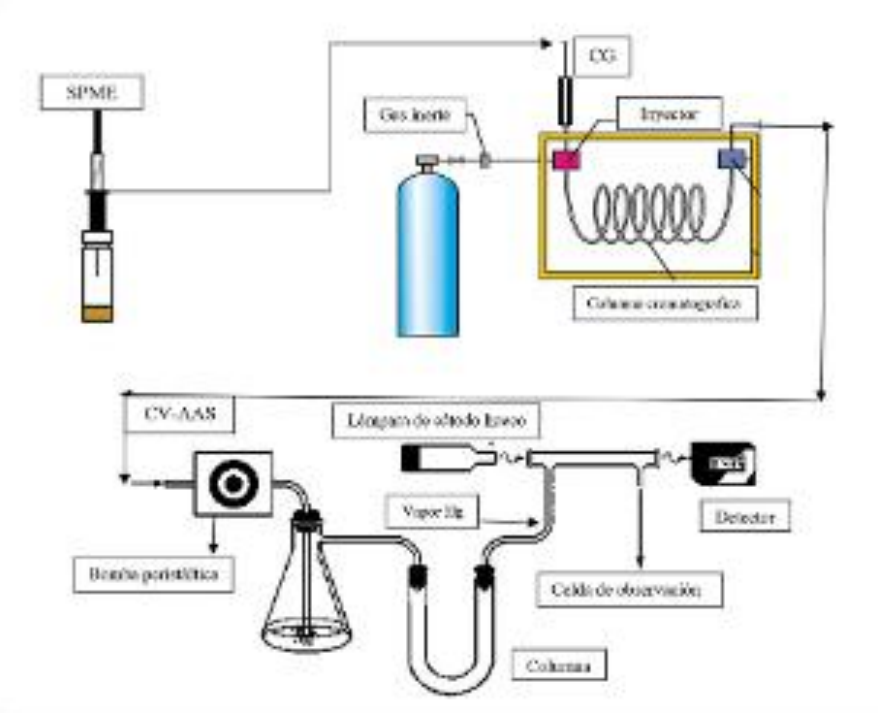


Figura 2. Sistema HS-SPME+GC+CV-AAS para la especiación de mercurio

Elaborado por: Autores

En otros estudios se ha utilizado la HS-SPME junto con un sistema GC-MS, y se notificaron límites de detección de 3,5 a 8,7 ng L^{-1} de mercurio inorgánico y de 7,5 a 6,7 ng L^{-1} de metil-mercurio en muestras de agua, sin embargo ya se han realizado investigaciones utilizando la técnica HS-SPME – GC – AFS y se obtuvieron límites de detección de 3.0 ng L^{-1} así como también HS-SPME – GC – ICP-SM obteniendo límites de detección de MeHg 0.014 (ng L^{-1}) y Hg^{+2} 0.074 (ng L^{-1}) informó (Bravo, et al. 2004).

Para la ejecución de esta metodología es necesario que la cristalería utilizada sea limpiada a fondo por una solución de HCl y HNO_3 y $HClO_4$ al 10% y posteriormente se enjuague con agua Milli-Q, para evitar cualquier interferencia en el análisis.

Las muestras deben ser acidificadas con HNO_3 al 1% para preservar la especiación de mercurio posteriormente, las muestras de agua se filtran a través de una membrana Fluoruro de polivinilideno de 0.45 mm, y el pH del análisis se llevó a 5,4 mediante la adición de 1 ml de tampón de ácido acético, acetato de sodio.

Para la pre concentración por HS-SPME, se requiere agregar 1 mL de tampón y una cantidad adecuada de muestra (3 ml) en el vial. A continuación, 0,2 ml del agente derivatizante (tetraetilborato de sodio o tetranpropilborato, al 2% en 0,1 molL^{-1} de NaOH) y se dejó reaccionar de 1 y 3 min. Finalmente, se colocó la fibra (polidimetilsiloxano), en el espacio superior del vial durante 5 min. Como se lo realizo en la investigación de (Bravo, et al. 2004)

Después de este tiempo de muestreo, la fibra se retira y se inserta inmediatamente en el inyector de GC para la desorción térmica, para la ejecución de este proceso la inyección de la muestra debe estar acompañado de un gas portador el cual puede ser Helio, Argón, Nitrógeno, Dióxido de carbono eh hidrogeno, la elección del gas está determinada por el tipo de detector que se utilice, posteriormente la fase móvil, pasa por la columna del cromatógrafo para la separación de las especies y puede ser dirigida a un detector de ionización de llama, para la identificación y cuantificación de las especies o como alternativa direccionarla a una técnica que puede tener una mayor eficiencia en este proceso como la espectroscopia de absorción atómica de vapor frio en la cual un gas inerte transporta la muestra hacia una columna en la cual se separan el vapor de agua y el vapor con las especies de mercurio para transportarse a la lámpara de cátodo hueco y en la cual los átomos de las especies de mercurio absorben una cierta cantidad de radiación es dirigida

a un monocromador y este a su vez genera una señal de radiación electromagnética la cual es dirigida a un detector y después a un amplificador para poder ser mostrada mediante el sistema de lectura de esta señal ya amplificada (Cortes, 2017).

4.5.2. Propuesta metodológica para la especiación de Arsénico

En la figura 3 se propone la metodología de especiación para arsénico (III) y (V) mediante la técnica de espectroscopia de absorción atómica por generación de hidruros, esta técnica en la actualidad no es una de las mejores considerando que presenta límites de detección de 0.4 μgL^{-1} resultados que se pueden apreciar en la investigación de (Maity et al. 2012).

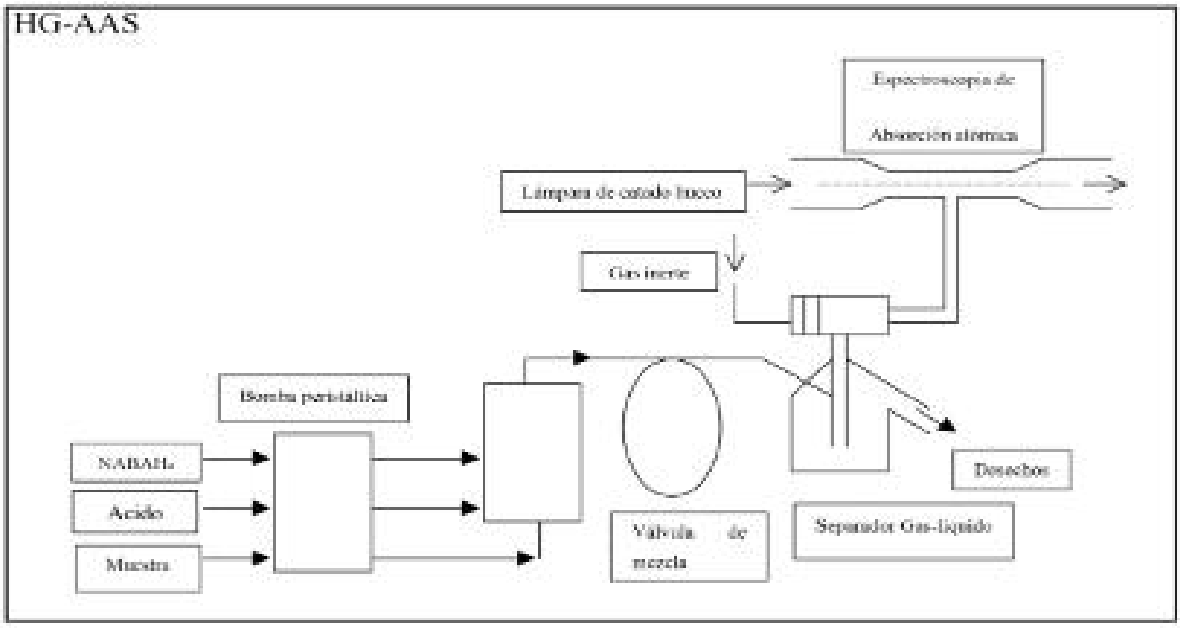


Figura 3 Sistema HG-FAAS para la especiación de arsénico

Elaborado por: Autores

La combinación de las técnicas es una parte fundamental para aumentar la sensibilidad y disminuir los límites de detección, la implementación de técnicas como la cromatografía líquida de alto rendimiento interconectada con espectrometría de masas de plasma acoplada inductivamente nos aporta límites de detección de 0.036- 0.20 μgL^{-1}en especies de arsénico como se evidencio en la investigación de (Zhang et al. 2020), sin embargo una de las técnicas que ha presentado mejores límites de detección es la espectrometría de absorción atómica electro térmica por generación de hidruros presentando límites de detección de 0,07 ngL^{-1} y llegando a especiar

hasta cuatro arsenicales As (III) y (V) así como también monometil arsina (MMA) y dimetil arsina (DMAA), (Anawar 2012).

Para le ejecución de este método es necesario estabilizar la muestra que se desea analizar mediante 2-3 gotas de HNO_3 inmediatamente después de la recolección. para la ejecución de este método es necesario de tres soluciones, la muestra que se requiere analizar, una solución acida, y un hidruro generalmente se utiliza borohidruro de sodio ($NaBH_4$) estas soluciones son inyectadas mediante una bomba peristáltica hacia una válvula de mezcla en donde reacciona el ácido con el ($NaBH_4$) formando una radical de hidrogeno el cual reacciona con el analito formando la especie molecular gaseosa, la solución posteriormente es transportada a un separador de gas líquido en el cual la fase liquida se retiene y es enviada a los desechos y la fase gaseosa de la solución es dirigida hacia el detector de espectroscopia absorción atómica la fase gaseosa pasa por la lámpara de cátodo hueco y en la cual los átomos de las especies de arsénico absorben una cierta cantidad de radiación es dirigida a un monocromador y este a su vez genera una señal de radiación electromagnética la cual es dirigida a un detector y después a un amplificador para poder ser mostrada mediante el sistema de lectura de esta señal ya amplificada. Estas técnicas de especiación de arsénico ya se han implementado en la cual utilizaron una solución acida cítrica ($C_6H_8O_7$), y borohidruro de sodio en la cual se obtuvieron límites de detección de 0.4 $\mu g L^{-1}$ resultados que se pueden apreciar en la investigación de (Maity et al. 2012).

4.5.3. Propuesta metodológica para la especiación de Plomo mediante (SPE+FAAS).

Para la especiación del plomo se establece una metodología en la cual diferentes procesos entrarán en funcionamiento para cumplir este objetivo. En la mayoría de artículos, publicaciones realizadas en la última década se pudo analizar los equipos que se utilizaron llevando a límites de detección muy bajos, cabe recalcar que hay artículos basados en una especiación simultanea de varios metales o a su vez de un metal pero con dos especies, la metodología que se utiliza en este caso para la especiación simultanea de tres metales entre ellos el plomo, es la combinación de dos técnicas muy poderosas en cuanto a detección, identificación y determinación de las especies de los metales, la espectrometría de masas de plasma acoplada inductivamente (ICP MS) interconectada con cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), teniendo límites de detección en el plomo de (0.023-0.041 $\mu g L^{-1}$) la combinación de estas dos técnicas llevan a los límites de detección muy bajos como lo manifiesta (Zhang et al. 2019).

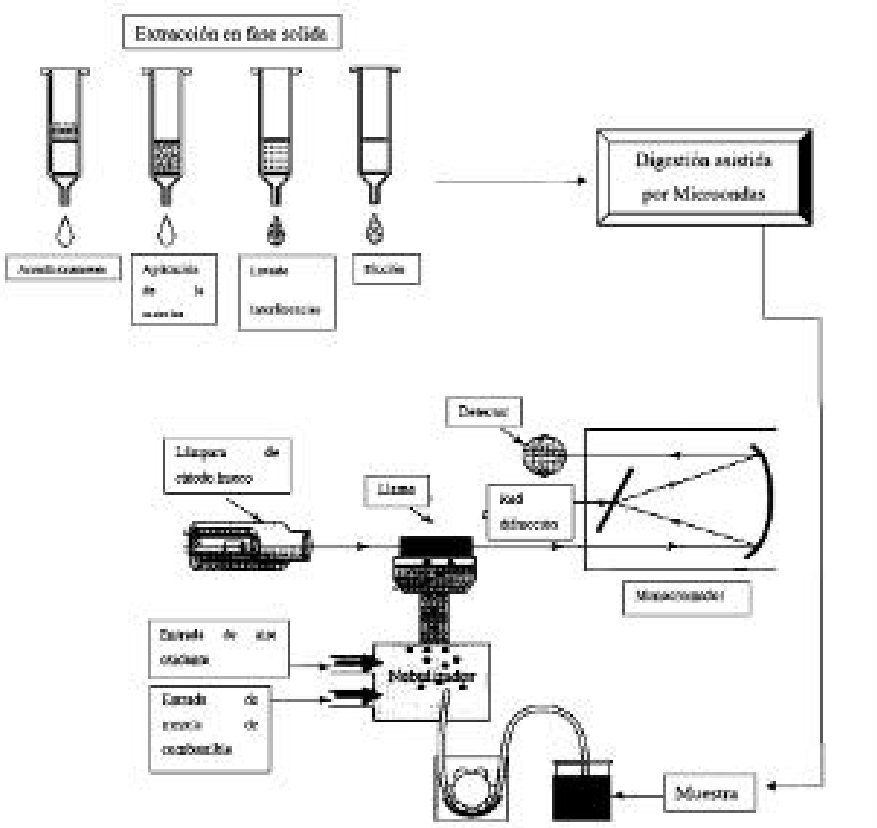


Figura 4. Sistema SPE+FAAS para la especiación de plomo

Otro de los artículos en los cuales la metodología resultó ser eficiente fue con la combinación de inyección en flujo (FIA) a la unidad de generación de hidruros (HG) acoplado a espectrometría de fluorescencia atómica (AFS) como técnica de detección donde destaca la técnica de HG ya que consideran que es la mejor al momento de analizar plomo, esta combinación de tecnología ha llevado que los límites de detección y cuantificación de 0.03 μg L^{-1} y 0.5 μg L^{-1} lo expresa (Beltran 2010). En nuestro caso brindamos la idea de una metodología acorde con las posibilidades de la universidad y aprovechando los equipos existentes los cuales son HPLC combinado con FAAS como los equipos específicos y esenciales en la especiación del plomo.

La combinación de técnicas se las realiza con el objetivo de mejorar los límites de detección para un mejor análisis eficiente y exacto de los metales, nace la idea mediante la base de datos analizada de combinar técnicas y equipos para la especiación del plomo acorde con las ofertas de la universidad. A continuación se procede a la explicación de la metodología para especiación del plomo: En primer lugar se realizara una extracción en fase sólida para separar las especies de

plomo existentes en las muestras con la utilización en este caso de 8- hidroxiquinolina o agentes quelatantes los cuales son intercambiadores iónicos, una vez que las especies de plomo sean separadas y concentrados por (SPE) mejorando los límites de detección, pasaría al microondas en donde actúa una digestión acida en la cual lleva a la materia orgánica a una reducción en donde se llevara a materia inorgánica después se procederá a colocar a la espectrometría de absorción atómica en llama (FAAS), siendo un método muy sencillo y cómodo para desarrollar en el laboratorio bajo las condiciones con la tecnología existente, que da buenos resultados de detección. La metodología propuesta fue establecida mediante la publicación de (Bakircioglu et al. 2002).

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- A través de la revisión bibliográfica de las técnicas de especiación de metales pesados en aguas superficiales se pudo evidenciar que la combinación de técnicas de pre concentración, separación y detección para la cuantificación permite obtener una alta especificidad, sensibilidad y bajos límites de detección y cuantificación, inclusive llegando a determinarse especies a niveles traza y ultra traza.

- Mediante una evaluación técnica y operativa de equipos, instrumentos, y dispositivos de análisis de los laboratorios de la Universidad Estatal Amazónica, se pudo determinar que cumplen parcialmente con las funciones y se encuentran en condiciones adecuadas para desarrollar técnicas de especiación de metales pesados en aguas superficiales.

- La micro extracción en fase sólida acoplada a la cromatografía de gases y espectrofotometría de absorción atómica con generación de vapor frío puede ser viable para la especiación de mercurio en los laboratorios de la Universidad Estatal Amazónica, y pudiera permitir llegar, teniendo en cuenta lo informado en la literatura científica especializada, a límites de detección de alrededor de 3.0 ng L^{-1}.

- La especiación de arsénico en los laboratorios de la Universidad Estatal Amazónica puede realizarse mediante la técnica de espectrofotometría de absorción de atómica con la generación de hidruros en separador gas-líquido; esta técnica puede permitir alcanzar, según la información bibliográfica, límites de detección inferiores a 0.4 µgL^{-1}.

- La especiación de plomo bajo las condiciones de la Universidad Estatal Amazónica sería factible realizarla combinando adecuadamente la técnica de digestión asistida por microondas seguida de extracción en fase sólida con 8-hidroxiquinolina y detección mediante espectrofotometría de absorción atómica, lo que, según la bibliografía consultada, permitiría llegar a límites de detección entre 0.24 µg L^{-1} y 0.40 µg L^{-1}.

5.2. Recomendaciones

- Para desarrollar la técnica de espectrofotometría de absorción atómica con generación de hidruros para arsénico y vapores fríos de mercurio de una mejor manera se recomienda adquirir una bomba peristáltica para el suministro de disoluciones y de muestras, la cual permitiría trabajar en un sistema automatizado de análisis por inyección en flujo.

- Implementar un sistema de extracción en fáse sólida en minicolumnas con el intercambiador iónico quelatante 8-hidroxiquinolina disponible, para el desarrollo de la metodología de especiación de plomo.

- Adquirir una lámpara de deuterio para implementar en el instrumento de espectrofotometría de absorción atómica como un corrector del ruido de fondo para que el análisis sea más limpio (menos ruido de fondo) al momento de la determinación de las especies como el plomo, lo cual contribuiría a mejorar los límites de detección y cuantificación.

- Valorar la posibilidad de desarrollar la especiación simultánea de los tres metales pesados a través del equipamiento de laboratorio necesario.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Anón. 2015. «Contaminación del agua con cromo. | El Agua». Recuperado 25 de junio de 2020 (https://www.madrimasd.org/blogs/remtavares/2015/12/09/132418).

Bakircioglu, Yasemin, Susana Rio Segade, Emily R. Emily R. Your, y Julian F. Tyson. 2002. «Evaluation of Pb-Spec® for flow-injection solid-phase extraction preconcentration for the determination of trace lead in water and wine by flame atomic absorption spectrometr».

Beltran, Blanca. 2010. «Determinación de plomo en muestras ambientales y biológicas por espectrometría de fluorescencia atómica acoplada a la generación de hidruros-inyección en flujo». Recuperado 26 de agosto de 2020 (https://ueaeduec-my.sharepoint.com/personal/amb2015379_uea_edu_ec/_layouts/15/onedrive.aspx?id=%2Fpersonal%2Famb2015379%5Fuea%5Fedu%5Fec%2FDocuments%2FTRABAJO%20DLOMO).

Bravo,. 2004. «Especiación de mercurio en agua de mar mediante técnicas acopladas con preconcentración y detectores espectrométricos». UNIVERSIDAD DE LA HABANA, Ciudad Habana.

Bravo, Luis R., Jorge Ruiz Encinar, José I. Fidalgo Martínez, y Alfredo Sanz-Medel. 2004. «Mercury Speciation Analysis in Sea Water by Solid Phase Microextraction–Gas Chromatography–Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry Using Ethyl and Propyl Derivatization. Matrix Effects Evaluation». *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 59(1):59-66.

Chimbo, Lorena, y Leandro Ortiz. 2012. «FACULTAD DE MECÁNICA ESCUELA DE INGENIERÍA MECÁNICA». 196.

Cientisol,. 2017. «Cientisol > Soluciones Científicas - La importancia de la especiación química». Recuperado 19 de junio de 2020 (http://www.cientisol.com/blog/110-la-importancia-de-la-especiacion-quimica).

ContrerasPérez, JoséB. s. f. «Períodocomprendidoentre 6/octubre2002 al 7/septiembre2003». 35.

Cortes, Dirección Nacional de. 2017. «Repositorio institucional UN». masters, Universidad Nacional de Colombia - Sede Bogotá.

Diaz,. 2013. «Avances en el control de la contaminación por metales: nuevas metodologías de análisis y especiación metálica en sistemas acuáticos. Estudios en la Bahía de Algeciras». Universidad de Cádiz, Cádiz.

Domínguez, Carmen Sagrario Hernández, Patricio Alvarez Muñoz, y Juliana Karina Zapa Cedeño. 2016. «Técnicas analíticas para el control de la contaminación ambiental / Analytical techniques for environmental pollution control». *CIENCIA UNEMI* 9(20):118-31.

Guerrero, Roberto Carlos Castro. 2017. «MEJILLÓN Mytella guyanensis (LAMARCK»,. 64.

Huimin, Yu, Li chenghui, Tian Yunfei, y Jiang Xiaming. 2019. «Recent developments in determination and speciation of arsenic in environmental and biological samples by atomic spectrometry». *06/10/2019* 46.

Ibarra, Claudia. 2011. «Caracterización y cuantificación de las especies de arsénico presentes en acuíferos que abastecen de agua potable a la Ciudad de Chihuahua».

IUPAC. s. f. «International Union of Pure and Applied Chemistry». *IUPAC | International Union of Pure and Applied Chemistry*. Recuperado 19 de junio de 2020 (https://iupac.org/).

James, Holler. 2000. «ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA».

Li, Jiaxin, Qingqing He, Lijuan Wu, Juan Sun, Feng Zheng, Li Li, Wenyuan Liu, y Jing Liu. 2020. «Ultrasensitive Speciation Analysis of Mercury in Waters by Headspace Solid-Phase Microextraction Coupled with Gas Chromatography-Triple Quadrupole Mass Spectrometry». *Microchemical Journal* 153:104459.

Lopez, Angeles, Antonia palacios, y Milagros Gomez. 1995. «Desarrollo de Métodos Analíticos para la Determinación de Seis Especies Químicas de Arsénico, en Muestras Medioambientales y mediante Acoplamiento: Cromatografla lónica de Alta Resolución-Horno Microondas-Generación Hidruros-Espectroscopia de Absorción Atómica». 250.

Maity, S., S. Chakravarty, P. Thakur, K. K. Gupta, S. Bhattacharjee, y B. C. Roy. 2012. «Evaluation and Standardisation of a Simple HG-AAS Method for Rapid Speciation of As(III) and As(V) in Some Contaminated Groundwater Samples of West Bengal, India». *Chemosphere* 54(8):1199-1206.

Martínez, Xavier Gaona. 2004. «EL MERCURIO COMO CONTAMINANTE...» 246.

Najafi, Amir, y Mahdi Hashemi. 2019. «Vortex-Assisted Supramolecular Solvent Microextraction Based on Solidification of Floating Drop for Preconcentration and Speciation of Inorganic Arsenic Species in Water Samples by Molybdenum Blue Method». *Microchemical Journal* 150:104102.

Peñalver, Alejandra. 2002. «APLICACIÓN DE LA MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA AL ANÁLISIS MEDIOAMBIENTAL». UNIVERSIDAD ROVIRA I VIRGILI, España.

Peñalver, Rosa, Natalia Campillo, Ignacio Lopez, y Manuel Hernandez. 2020. «Solid-phase microextraction for the determination of iron organic compounds in seawaters and soils by gas chromatography coupled to microwave-induced plasma with atomic emission detection spectrometry». 6.

Pm, Castañé, Topalián Ml, y Cordero Rr. 2003. «Influencia de la especiación de los metales pesados en medio acuático como determinante de su toxicidad». *Rev. Toxicol.* 7.

Rodriguez,. 2015. «Cromatografía Líquida (HPLC)». 2.

Scai,. 2016. «Espectrometría de Masas». *SERVICIOS CENTRALES DE APOYO A LA INVESTIGACIÓN*. Recuperado 19 de junio de 2020 (http://www.scai.uma.es/areas/aqcm/ems/ems.html).

Viera, Sergio, y Juan Santana. 2015. «TÉCNICAS ANALÍTICAS AVANZADAS PARA LA EXTRACCIÓN Y PRECONCENTRACIÓN DE CONTAMINANTES EMERGENTES EN MUESTRAS LÍQUIDAS».

Yulieth C. 2016. «CONTAMINACIÓN POR METALES PESADOS: IMPLICACIONES EN SALUD, AMBIENTE Y SEGURIDAD ALIMENTARIA». 12.

Zhang, Danyu, Shiwei Yang, Qingfang Ma, Jiannan Sun, Heyong Cheng, Yuanchao Wang, y Jinhua Liu. 2019. «Simultaneous multi-elemental speciation of As, Hg and Pb by inductively coupled plasma mass spectrometry interfaced with high-performance liquid chromatography».

Zhang, Danyu, Shiwei Yang, Qingfang Ma, Jiannan Sun, Heyong Cheng, Yuanchao Wang, y Jinhua Liu. 2020. «Simultaneous Multi-Elemental Speciation of As, Hg and Pb by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry Interfaced with High-Performance Liquid Chromatography». *Food Chemistry* 313:126119.

Zúñiga, Francisco Bautista. 1999. *Introducción al estudio de la contaminación del suelo por metales pesados*. UADY.