

Determinación de Cu, Zn, Pb y Cd por espectrometría de emisión atómica con plasma inductivamente acoplado en aguas y sedimentos del ecosistema San Juan, Santiago de Cuba

Determination of Cu, Zn, Pb and Cd by Atomic Emission Spectrometry with Inductively Coupled Plasma in Waters and Sediments from San Juan Ecosystem, Santiago de Cuba

MSc. George Argota-Pérez,¹ Lic. Humberto Argota-Coello,² MSc. Ángel Fernández-Heredia³
george.argota@gmail.com



¹Centro de Toxicología y Biomedicina, Santiago de Cuba, Cuba; ²Empresa Geominera Oriente, Santiago de Cuba, Cuba; ³Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba

● Resumen

En este trabajo se evalúan los niveles de concentración de cobre, cinc, plomo y cadmio en las aguas y sedimentos del ecosistema San Juan en la provincia Santiago de Cuba. Para ello se realizaron dos muestreos del ecosistema en dos estaciones pertenecientes a la parte alta y media del río, en períodos de lluvia y poca lluvia. La conservación y tratamiento de las muestras se realizó según las normas establecidas y se efectuaron las determinaciones de los elementos por espectrometría de emisión atómica con plasma inductivamente acoplado. Se establecieron los intervalos de concentraciones de los elementos estudiados tanto en las aguas superficiales como en los sedimentos y se demostró que existen diferencias estadísticas significativas para los factores estación, período y tipo de muestra, siendo la parte media del río, el período de poca lluvia y en los sedimentos donde aparecen las mayores concentraciones de los contaminantes.

Palabras claves: metales, aguas, sedimentos, ICP-AES, San Juan.

● Abstract

In this paper the levels of concentration of copper, zinc, lead and cadmium in waters and sediments from the ecosystem San Juan in the Santiago of Cuba province were evaluated. Two sampling of the ecosystem in two stations belonging to the high and middle part of the river, in rainy and little rainy periods were carried out. The conservation and treatment of the samples were developed according to established standards and the determinations of the elements were realized using atomic emission spectrometry with inductively coupled plasma. The concentrations intervals of the studied elements were established so much in the superficial waters like in the sediments and it was demonstrated that exists statistical significant differences for the factors station, period and type of sample, being the middle part of the river, the little rainy period and the sediments, where the grater concentrations of the pollutants appear.

Keywords: metals, waters, sediments, ICP-AES, San Juan.

● Introducción

Para entender el modo en que las actividades humanas afectan las aguas superficiales y subterráneas se debe tener en cuenta que los aportes antropogénicos pueden tener un origen muy diverso. Por un lado están las denominadas fuentes puntuales como la descarga de efluentes de aguas residuales tratadas o de los efluentes procedentes de actividades industriales, cuyo origen está geográficamente bien delimitado, por lo que resulta más sencillo realizar un seguimiento de los cambios que producen en el medio receptor. Por otro lado existen las fuentes no puntuales o difusas, debidas, principalmente, a las escorrentías procedentes de zonas urbanas y agrícolas. Los efectos producidos por estos aportes no puntuales pueden abarcar una zona geográfica extensa no delimitada, por lo que son más difíciles de controlar /1, 2/.

En el caso de los metales, la tabla periódica incluye unos 70 elementos metálicos, de ellos 59 pueden ser considerados "metales pesados", y son aquellos con peso atómico mayor que el del Fe (55,85 g/mol). Con esta precisión se excluirían metales con pesos atómicos menores que el del Fe, que con frecuencia pueden ser metales contaminantes como el V (50,95), Mn (54,44), Cr (52,01) y otros que realmente no son metales como As, F y P. Por ello, resulta mejor hablar de contaminación por "elementos traza", dado que la mayoría de los contaminantes inorgánicos son "metales pesados".

Los elementos traza están presentes en concentraciones relativamente bajas ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) tanto en la corteza de la tierra como en suelos y plantas. En sentido general todos los elementos traza son tóxicos si se ingieren o inhalan en cantidades suficientemente altas y durante largos períodos de tiempo /3/.

Entre las principales fuentes antropogénicas para los elementos traza se encuentran las actividades agrícolas, metalúrgicas, la energía tanto en su producción como transporte, además de los productos micro-electrónicos y la deposición de residuos /4/.

A nivel de ecosistemas acuáticos, los metales pesados se transforman a través de procesos biogeoquímicos en especies con distintas características físico-químicas /5/. La medición de los niveles de metales disueltos en las aguas naturales

como indicador de matriz ambiental, presenta varios problemas analíticos debido a que, en múltiples ocasiones, los metales se encuentran en bajas concentraciones o cercanos a los límites de detección de los métodos empleados, por lo que es necesario realizar preconcentraciones de los mismos. La medición de las concentraciones totales provee de una estimación del grado de contaminación que presentan las aguas, pero la fracción biodisponible de cada especie metálica es la que presenta una mayor relevancia toxicológica para la acumulación por los organismos /6/.

Actualmente la distribución, movilidad, disponibilidad biológica y toxicidad de los elementos químicos no son funciones de la concentración total de metales, sino de la forma química en la que se encuentren.

Los elementos forman parte de distintas moléculas en función de su estado de oxidación y del medio en que se encuentren, por lo que el análisis de especiación es una herramienta esencial para la evaluación de riesgos en el medioambiente, permitiendo que se realicen diagnósticos y controles más efectivos de los elementos trazas. Es por ello que la legislación ambiental está basada en la concentración máxima permisible de especies químicas, en vez de las concentraciones totales de los elementos /7/.

En relación con la matriz sedimentos los metales pasan a formar parte de la misma mediante proceso de adsorción, precipitación y reacciones de formación de complejos /8/.

En la precipitación de los metales los aniones sulfato, carbonato, hidróxido y fosfato resultan los de mayor importancia /9/, aunque para aniones oxigenados de cromo es probable también la formación de especies poco solubles al enlazarse al ión Ca^{2+} . En presencia de Fe, Mn o Al puede ocurrir coprecipitación de otros metales igualmente presentes en las aguas /8/.

Al analizar los sedimentos pueden evitarse algunas desventajas y dificultades que se presentan en comparación con el análisis de las aguas y ello se encuentra relacionado fundamentalmente con las bajas concentraciones en que se encuentran los contaminantes en la columna líquida /10/. En los sedimentos se depositan los metales provenientes de

fuentes antropogénicas, por lo que pueden considerarse una huella o archivo histórico para el estudio de la contaminación con esos elementos /11/. Por otra parte, al encontrarse los metales pesados en mayores concentraciones en los sedimentos, resulta mucho más fácil cuantificarlos y el resultado es menos susceptible de contaminación accidental /12/.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar los niveles de concentración de Cu, Zn, Pb y Cd en las aguas y sedimentos del ecosistema San Juan en la provincia de Santiago de Cuba.

● Materiales y métodos

Análisis de muestreo

Se realizaron dos muestreos del ecosistema en dos estaciones pertenecientes a la parte alta y media del río principal de la cuenca hidrográfica San Juan, debido a las características limnográficas e identificación de fuentes contaminantes de primer impacto. Se consideraron los períodos de lluvia y poca lluvia del año 2012, donde los contaminantes procedentes de las diversas fuentes identificadas experimentan variaciones en la dilución y, por tanto, en los contenidos de metales pesados.

Se evaluaron tanto las aguas superficiales como los sedimentos y cada punto fue muestreado por triplicado. Asimismo, se tuvieron en cuenta criterios prácticos de accesibilidad al lugar, posibilidad de muestreo en ambas orillas del río, profundidad, existencia de construcciones cercanas o accidentes geográficos del relieve muy llamativos que pudieran servir como puntos de referencia.

Conservación de las muestras

El muestreo de las aguas se realizó utilizando una vara plástica de 1,5 m de largo con un vaso de precipitado plástico de 1 L de capacidad. Las muestras se tomaron con cuidado de la capa superficial sin remover el sedimento, fundamentalmente en lugares poco profundos. El volumen de muestra tomada en cada estación fue aproximadamente de 5 L /13-15/. Luego, las muestras se homogeneizaron en un tanque de polietileno previamente endulzado con agua del río.

Las muestras de sedimentos se tomaron en ambas orillas del río a un metro de distancia. Para el estudio se utilizó solamente la capa superficial (5 cm de espesor) /16/. Se tuvo cuidado de no alterar la interfase agua-sedimento /17/. Los sedimentos seleccionados en cada estación se colocaron en recipientes plásticos para su traslado al laboratorio.

Preparación de las muestras para el análisis

Se tomaron 3 L de agua los cuales se filtraron a través de una membrana de acetato de celulosa de 45 μm . La solución resultante fue acidulada hasta un valor de $\text{pH} < 2$, para lo que se utilizó HNO_3 . Las muestras de sedimentos se secaron al aire libre durante 10 días /18/ y posteriormente se cribaron con ayuda de un agitador horizontal en tamices de 63 mm que incluyen las arcillas ($< 2 \mu\text{m}$) y limos (2-63 μm), que es donde se concentra la mayor parte de los metales pesados y la materia orgánica /19/.

Para realizar el análisis se tomaron 2 g de sedimento seco, se le añadieron 40 mL de agua regia $\text{HCl}:\text{HNO}_3$ (3:1) y se calentó a una temperatura no mayor de 180 $^\circ\text{C}$ hasta obtenerse sales húmedas. Seguidamente se añadieron 5 mL de HNO_3 0,7 M para disolver sales y se enrasó con agua desionizada hasta un volumen de 100 mL. Se realizaron algunas modificaciones de procedimientos analíticos reportados /20/.

Preparación de la curva de calibración

La curva de calibración se realizó a partir de reactivos de calidad espectral, verificando las características metroológicas del método usando valores certificados de muestras patrones de referencia de cada tipo de muestra (líquida o sólida). Se partió de una solución patrón de 1 000 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, y los estándares de calibración se prepararon por dilución de la misma con solución de HNO_3 0,7 M.

Condiciones instrumentales

Se determinaron los contenidos de los metales Cu, Zn, Pb y Cd mediante mediciones con el Espectrómetro ICP-AES con vista axial (Spectro-Arco) según las condiciones reportadas en la tabla 1. Todos los análisis se realizaron por triplicado a partir de muestras independientes.

TABLA 1. CONDICIONES INSTRUMENTALES

PARÁMETROS	CONDICIONES
Tipo de nebulizador	Meinhard (concéntrico)
Graticula	2 400 líneas /mm
Frecuencia	27 MHz
Energía del plasma	1,4 KW
Velocidad de flujo del gas	18,8 L/min
Pre flujo	2 mL/min
Velocidad de bombeo de la muestra	15 rpm
Tiempo de integración	3 segundos
Ranura de entrada de la radiación	25 μ m

Análisis de los datos

Para el tratamiento de los resultados se aplicaron métodos estadísticos: análisis de varianza factorial con réplicas (para definir las fuentes de variación significativas) y la prueba de intervalos múltiples de Duncan (para determinar las magnitudes individuales de las diferencias que resulten significativas) /21/. Todos los cálculos se realizaron utilizando el software profesional Statgraphics /22/.

● Resultados y discusión

Debido, por una parte, a que los metales pesados constituyen un grupo bien definido de elementos químicos inorgánicos, con alta toxicidad y capacidad de acumulación en los

tejidos de los organismos vivos, que ocasionan graves daños a los ecosistemas y provocan alteraciones genéticas en el ser humano /23/, y por otra parte, al actuar los sedimentos como sumideros y, a la vez, como fuente de metales pesados por sus propiedades físicas y químicas /24/, el estudio de acumulación de los metales pesados en los sedimentos cada día cobra más importancia /25/.

En la tabla 2 se presentan los resultados experimentales obtenidos. La aplicación del análisis de varianza factorial permite identificar si existen diferencias significativas entre los niveles de concentración de los metales pesados para los diferentes muestreos, estaciones, período climático y tipo de muestra.

TABLA 2. CONTENIDOS DE METALES PESADOS EN AGUAS ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) Y SEDIMENTOS ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) DEL ECOSISTEMA SAN JUAN

Muestreo	Estación	Periodo	Muestra	Cu	Zn	Pb	Cd
I	parte alta	lluvioso	agua	9,21	20,2	0,11	0,008
				11,4	21,6	0,12	0,008
				8,73	22,3	0,11	0,009
I	parte alta	lluvioso	sedimento	33,5	59,3	9,27	5,31
				35,5	57,5	9,22	5,42
				34,3	58,4	9,56	5,38
I	parte alta	poco lluvioso	agua	11,2	25,8	0,15	0,01
				11,7	27,1	0,17	0,01
				12,3	29,3	0,18	0,02
I	parte alta	poco lluvioso	sedimento	38,8	78,6	15,2	9,54
				37,2	80,4	16,1	9,79
				38,2	82,7	15,7	9,67

(continuación tabla 2)

I	parte media	lluvioso	agua	14,2	28,1	0,17	0,13
				15,1	31,1	0,17	0,14
				16,2	29,4	0,18	0,13
I	parte media	lluvioso	sedimento	41,2	66,3	12,3	12,3
				42,5	67,6	12,4	12,3
				43,1	68,1	12,4	12,4
I	parte media	poco lluvioso	agua	17,2	31,1	0,19	0,16
				18,3	33,5	0,18	0,17
				18,8	34,5	0,18	0,16
I	parte media	poco lluvioso	sedimento	56,1	71,4	17,4	16,5
				59,2	71,9	17,4	16,5
				58,4	80,2	17,3	16,6
II	parte alta	lluvioso	agua	9,24	18,5	0,12	0,007
				10,6	19,9	0,12	0,007
				7,76	21,6	0,11	0,008
II	parte alta	lluvioso	sedimento	32,7	58,6	9,24	5,28
				34,7	56,8	9,19	5,38
				33,4	57,7	9,53	5,32
II	parte alta	poco lluvioso	agua	10,3	25,9	0,12	0,01
				10,8	26,4	0,14	0,01
				11,4	28,6	0,15	0,02
II	parte alta	poco lluvioso	sedimento	37,9	76,9	14,8	9,51
				36,3	78,7	15,7	9,76
				37,3	80,9	14,4	9,64
II	parte media	lluvioso	agua	15,2	27,2	0,16	0,12
				14,3	30,3	0,16	0,13
				15,1	28,5	0,18	0,13
II	parte media	lluvioso	sedimento	38,2	65,4	11,4	11,4
				40,5	66,7	11,5	11,4
				41,4	67,2	11,5	11,8
II	parte media	poco lluvioso	agua	16,2	30,2	0,18	0,17
				17,4	32,6	0,19	0,16
				16,8	33,6	0,17	0,16
II	parte media	poco lluvioso	sedimento	55,2	70,5	16,5	15,4
				58,3	71,1	16,5	15,5
				58,4	72,2	16,6	15,5

En la tabla 3 se presenta la tabla ANOVA para las fuentes de variación estudiadas. En la última columna de la misma se muestran los valores experimentales de probabilidad evaluados en la distribución de Fisher, los que resultan significativos cuando p-valor es menor que 0,05.

Como se aprecia, el factor muestreo no influye significativamente en las concentraciones de ninguno de los elementos estudiados (p-valor > 0,05 en todos

los casos), lo que indica que los niveles de exposición del río a estos elementos se mantuvieron constantes entre un muestreo y otro.

Los factores estación, período y tipo de muestra presentaron diferencias estadísticas significativas para todos los elementos analizados, lo que indica que los niveles de exposición son variables según el lugar del río, la estación del año y si los contaminantes están presentes en las aguas o en los sedimentos.

TABLA 3. ANÁLISIS DE VARIANZA FACTORIAL PARA LOS ELEMENTOS

Elemento	Fuente de variación	Suma de cuadrados	gL	Cuadrado medio	F _{exp}	p-valor
Cu	Muestreo	11,0	1	11,0	0,72	0,40
	Estación	1 130	1	1 130	73,8	0,00
	Periodo	442	1	442	28,9	0,00
	Muestra	10 292	1	10 292	673	0,00
	Residual	658	43	15,3		
	Total			47		
Zn	Muestreo	19,2	1	19,2	0,99	0,33
	Estación	188	1	188	9,62	0,00
	Periodo	1 062	1	1 062	54,4	0,00
	Muestra	21 160	1	21 160	1 082	0,00
	Residual	840	43	19,5		
	Total			47		
Pb	Muestreo	1,17	1	1,17	0,47	0,50
	Estación	13,9	1	13,9	5,54	0,02
	Periodo	91,8	1	91,8	36,7	0,00
	Muestra	2 099	1	2 099	839	0,00
	Residual	108	43	2,50		
	Total			47		
Cd	Muestreo	0,71	1	0,71	0,18	0,68
	Estación	131	1	131	32,2	0,00
	Periodo	53,0	1	53,0	13,1	0,00
	Muestra	1 362	1	1 362	336	0,00
	Residual	175	43	4,06		
	Total			47		

TABLA 4. CONCENTRACIONES MEDIAS DE LOS EFECTOS SIGNIFICATIVOS

METAL	ESTACIÓN		PERÍODO		MUESTRAS DE	
	parte alta	parte media	lluvioso	poco lluvioso	aguas	sedimentos
Cu	23,1	32,8	24,9	31,0	13,3	42,6
Zn	46,4	50,3	43,7	53,1	27,4	69,4
Pb	6,23	7,30	5,38	8,15	0,15	13,4
Cd	3,76	7,06	4,35	6,46	0,08	10,7

Las casillas sombreadas se refieren a diferencias estadísticas muy significativas.

Las magnitudes individuales de estas diferencias se evaluaron aplicando la prueba de intervalos múltiples de Duncan. En la tabla 4 se presentan los resultados de las concentraciones medias para cada uno de los elementos expresados en $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ para las aguas, y $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ para los sedimentos.

Para las estaciones se apreció una mayor concentración de todos los contaminantes en la

parte media del río, lo cual pudo estar dado a los efectos aditivos por descargas residuales de fuentes que se identifican además en esta zona, es decir, aquellos residuales tributados por las fuentes identificadas como contaminantes en la parte alta del río principal, conjuntamente con aquellos que se van adicionando durante todo el curso de agua hasta su desembocadura.

Cuando se analiza el período del año en que se realizó el muestreo, se observa una disminución significativa de todos los contaminantes, ya que al incrementarse el caudal del río, aumenta la dilución de los elementos y, por tanto, disminuye la contaminación. El comportamiento de esta relación inversamente proporcional.

En el caso del tipo de muestra se aprecia una diferencia muy significativa entre los niveles de exposición en aguas y sedimentos con diferencia marcada tanto para Pb como Cd.

Los sedimentos evidentemente presentan una mayor concentración de metales pesados, provocado por procesos de adsorción, precipitación y reacciones de formación de complejos. En el caso de los elementos Pb y Cd, la gran diferencia observada estuvo determinada por la tendencia de estos elementos a formar sales y óxidos menos solubles que el Cu y Zn.

La dinámica de los elementos traza en las corrientes de aguas y los ríos resulta más compleja que en lagos y océanos, ya que hay que tener en cuenta el flujo de las aguas hacia la desembocadura que arrastra a los elementos en esa dirección. Durante este movimiento se producen interacciones entre los distintos compartimentos que forman el río, es decir, el agua, materia suspendida (seston) y el bentos, los que afectan a los elementos traza.

En el agua los elementos pueden aparecer en forma disuelta o coloidal, con la consiguiente interacción entre ambas fases. La materia suspendida engloba materia particulada en suspensión de origen no biótico y material biológico como bacterias y fitoplancton. El bentos agrupa a los sedimentos y las capas de algas y microbios. Las características de cada uno de estos compartimentos dependerán del tipo de río y las interacciones entre ellos incluyen transformaciones químicas y procesos biológicos /26/.

Las dificultades asociadas al análisis de metales traza en aguas naturales son muchas, fundamentalmente por estar relacionadas con sus bajas concentraciones y en algunos casos, con la

complejidad de la matriz. Si se desean obtener valores fiables de concentración de metales traza en muestras de agua hay que tener un especial cuidado en la realización de cada una de las etapas experimentales que componen el análisis. Estas etapas comienzan con la toma de muestra y el almacenamiento de la misma, la realización de una etapa de preconcentración y la determinación analítica de los elementos de interés.

Cada uno de estos pasos implica una manipulación de la muestra que puede originar cambios en su composición, de modo que se obtengan resultados que no representen la realidad. Estos cambios suelen deberse a problemas de contaminación y es por ello que desde hace algunas décadas se han introducido las técnicas de limpieza durante el muestreo y posterior tratamiento de la muestra.

En este sentido, existió un trabajo pionero relacionado con el plomo, donde se determinó que las medidas de las concentraciones ambientales de plomo eran con frecuencia erróneas, debido a la contaminación de las muestras con este elemento. Asimismo se desarrollaron los primeros protocolos de limpieza para el muestreo y manipulación de las muestras en el análisis elemental de matrices ambientales /27/. Otros autores se hicieron partícipes de la utilización de este tipo de técnicas limpias para la determinación de elementos traza en aguas naturales /28/.

Actualmente su uso se ha extendido por todo el mundo y entre las prácticas más habituales pueden citarse el uso de laboratorios con atmósfera controlada, protocolos exhaustivos para la limpieza de material y purificación de los reactivos utilizados en el tratamiento de las muestras, así como el uso de material y accesorios hechos de materiales libres de contaminación metálica /29-31/.

A consideración de los autores, si bien es cierto que este trabajo es uno de los primeros de su tipo realizado en el ecosistema San Juan, es preciso destacar que la comparación en cuanto a la concentración de metales pesados disponibles en

matrices abióticas como las aguas y los sedimentos en relación con su comportamiento en otros ecosistemas presenta una compleja significación ambiental, ya que, generalmente, su presencia y posibles efectos sobre los sistemas biológicos dependen de múltiples factores, no solo para los relacionados con las propiedades del elemento en cuestión, la tasa de emisión de las fuentes tributarias, como se ha señalado, sino, además, por los efectos de interacción con otros contaminantes de interés. De forma particular, destacan los niveles de variación de las propiedades físico-químicas como característica principal limnológica del compartimento acuático.

Conclusiones

1. En las aguas del ecosistema San Juan de la provincia Santiago de Cuba, los niveles de concentración de los elementos estudiados se encuentran entre los siguientes límites:

Cu (de 9 a 17 mg · L⁻¹), Zn (de 18 a 34 mg · L⁻¹), Pb (de 0,1 a 0,2 mg · L⁻¹) y Cd (de 0,01 a 0,17 mg · L⁻¹).

2. En los sedimentos del ecosistema San Juan de la provincia Santiago de Cuba, los niveles de concentración de los elementos estudiados se encuentran entre los siguientes límites:

Cu (de 33 a 59 mg · kg⁻¹), Zn (de 57 a 83 mg · kg⁻¹), Pb (de 9 a 18 mg · kg⁻¹) y Cd (de 5 a 17 mg · kg⁻¹).

3. Las concentraciones de todos los elementos estudiados presentan diferencias estadísticas significativas para los factores estación, período y tipo de muestra. Las mayores concentraciones de los contaminantes aparecen en la parte media del río, el período de poca lluvia y en los sedimentos.

Bibliografía

1. ROBSON, A. J.; NEAL, C. A. "Summary of Regional Water Quality for Easter UK Rivers". *The Science of the Total Environment*. 1997, 194/195, p. 173-192.
2. BEHRENDT, H.; KOMMILCH, M.; OPITZ, D.; SCHMOLL, O.; SCHOLZT, G. "Estimation of the Nutrient Inputs Into River Systems-Experiences from German Rivers". *Regional Environmental Change*. 2002, 3, 1-3, p. 107-117.
3. PLANT, J.; SMITH, D.; SMITH, B.; WILLIAMS, L. "Environmental Geochemistry at the Global Scale". *Applied Geochemistry*. 2001, 16, 1, p. 1291-1308.
4. ZHOU, Q.; ZHANG, J.; FU, J.; SHI, J.; JIANG, G. "Biomonitoring: an Appealing Tool for Assessment of Metal Pollution in the Aquatic Ecosystem". *Anal. Chim. Acta*. 2008, 606, 2, p. 135-150.
5. TERCIER WAEBER, M. L.; TAILLEFERT, M. "Remote in Situ Voltametric Techniques to Characterize the Biogeochemical Cycling of Trace Metals in Aquatic Systems". *J. Environ. Monitor*. 2008, 10, 1, p. 30-50.
6. RAINBOW, P. S. "Biomonitoring of Heavy Metal Availability in the Marine Environment". *Marine Pollution Bulletin*. 1995, 31, 4-12, p. 183-192.
7. SIGG, L.; BLACK, F.; BUFFLE, J.; CAO, J.; CLEVEN, R.; DAVIDSON, W. "Comparasion of Analytical Techniques for Dynamic Trace Metal Speciation in Natural Freshwaters". *Environ. Sci. Technol*. 2006, 40, 6, p. 1934-1941.
8. BOLAN, N. S.; ADRIANO, D. C.; NAIDU, R. "Role of Phosphorus in (Im)mobilization and Bioavailability of Heavy Metals in the Soil-Plant System". *Rev. Environmental Contamination Toxicology*. 2003, 177, p. 1-44.
9. ADRIANO, D. C. *Trace Elements in Terrestrial Environments: Biogeochemistry, Bioavailability and Risks of Metals*. 2nd Edition. New York, USA: Springer, 2001.
10. LINNIK, P. M.; ZUBENKO, I. B. "Role of Bottom Sediments in the Secondary Pollution of Aquatic Environments by Heavy-Metal Compounds. Lakes and Reservoirs". *Research and Management*. 2000, 5, 1, p. 11-21.
11. URRUTIA, R.; YEVENES, M.; BARRA, R. "Determinación de los niveles basales de metales traza en sedimentos de tres lagos andinos de Chile: Lagos Chungará, Laja y Castor". *Bol. Soc. Chil. Quím*. 2002, 47, 4, p. 457-467.
12. MOSSOP, K. F.; DAVIDSON, C. M. "Comparison of Original and Modified BCR Sequential Extraction Procedures for the Fractionation of Copper, Iron, Lead, Manganese and Zinc in Soils and Sediments". *Anal. Chim. Acta*. 2003, 478, 1, p. 111-118.
13. ISO. Water Quality. Sampling. Part 1: Guidance on the Design of Sampling Programmes. ISO 5667-1. 1980.
14. _____. Water Quality. Sampling. Part 2: Guidance on Sampling Techniques. ISO 5667-2. 1991.
15. _____. Water Quality. Sampling. Part 3: Guidance on the Preservation and Handling of Samples. ISO 5667-3. 1994.
16. KRUEGER, R. A. *Focus Groups: A Practical Guide for Applied Research*. Beverly Hills, California: Sage, 1991.

17. GÓMEZ ARIZA, J. L.; GIRALDEZ, I.; SÁNCHEZ, R. D.; MORALES, E. "Selectivity Assessment of a Sequential Extraction Procedure for Metal Mobility Characterisation Using Model Phases". *Talanta*. 2000, 52, 3, p. 545-554.
18. NYINGI, J. "Heavy Metal Distribution and Enrichment at Port-Reitz Creek, Mombasa". *Western Indian Ocean J. Mar. Sci.* 2002, 1, 1, p. 65-70.
19. ROSAS, R. H. "Estudio de la contaminación por metales pesados en la cuenca del Llobregat". Tesis de doctorado. Universidad Politécnica de Cataluña, 2001.
20. MÁRQUEZ, A.; WILLIAM SENIOR, W.; MARTÍNEZ, G.; CASTAÑEDA, J.; GONZÁLEZ, A. "Concentraciones de metales en sedimentos y tejidos musculares de algunos peces de la Laguna de Castillero, Venezuela". *Rev. Cient. FCV-LUZ*. 2008, 18, 2, p. 121-133.
21. MONTGOMERY DOUGLAS, C. *Diseño y Análisis de Experimentos*. México DF: Grupo Editorial Iberoamérica S.A de C.V., 1991.
22. STATPOINT TECHNOLOGIES. Software: Statgraphics Plus for Windows. Version 5.1. Copyright 1994-2001 for Statistical Graphics Corporation.
23. MEDINA, H. M.; CORREA, J. A.; BARATA, C. "Micro-Evolution Due to Pollution: Possible Consequences for Ecosystem Responses to Toxic Stress". *Chemosphere*. 2007, 67, 11, p. 2105-2114.
24. SUNDARARAJAN, M.; NATESAN, U. "Environmental Geochemistry of Core Sediments from Serthalaikkadu Creek, East coast of India". *Environ Earth Sci.* 2010, 62, 3, p. 493-506.
25. BOTTÉ, S. E.; FREIJE, R. H.; MARCOVECCHIO, J. E. "Distribution of Several Heavy Metals in Tidal Flats Sediments within Bahía Blanca Estuary (Argentina)". *Water Air Soil Pollut.* 2010, 210, 1-4, p. 371-388.
26. HART, B. T.; HINES, T. *Trace Elements in Rivers. In Trace Elements in Natural Waters*. CRC Press, Boca Ratón: Eds. B. Salbu and E. Steinnes, 1995.
27. PATTERSON, C. C.; SETTLE, D. M. "The Reduction of Orders of Magnitud Errors in Lead Analyses of Biological Materials and Natural Waters by Evaluating and Controlling the Extent and Sources of Industrial Lead Contamination Introduced During Sample Collecting, Handling and Analysis". In: National Bureau of Standar Special Publication 422. *Accuracy in Trace Analysis: Sampling; Sample Handling and Analysis*. Proceedings of the 7th IMR Symposium. Gaithersburg, MD. 1976, p. 321-355.
28. BRULAND, K. W.; FRANKS, R. P. "Sampling and Analytical Methods for the Determination of Copper, Cadmium, Zinc and Nickel at the Nanogram per Liter Level in Seawater". *Analytica Chimica Acta*. 1979, 105, 1, p. 233-245.
29. AHLERS, W. W.; REID, M. R.; KIM, J. P.; HUNTER, K. A. "Contamination-Free Sample Collection and Handling Protocols for Trace Elements in Natural Fresh-Waters". *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*. 1990, 41, 6, p. 713-720.
30. ROADHES, C. B. "Clean Laboratory Chemistry for the Microwave-Assisted Digestion of Botanical Samples". *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 1996, 11, 9, p. 751-757.
31. CAMPOS, MLAM; BENDO, A.; VIEL, F. C. "Low Cost Methods to Purify Low Grade Reagents and to Control Contamination for Trace Metal Determination in Natural Waters". *Quimica Nova*. 2002, 25, 5, p. 808-813.