

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad Ciencias Naturales y Matemáticas

“DETERMINACIÓN DE SULFUROS VOLÁTILES ÁCIDOS Y TOXICIDAD DE
METALES PESADOS EN SEDIMENTOS DEL ESTERO SALADO MEDIANTE LA
TÉCNICA APHA 4500-S²⁻ J.”

PROYECTO INTEGRADOR

Previo la obtención del Título de:

INGENIERO QUÍMICO

Presentado por:

Bryan Gregorio Zambrano Bravo

Andrea Nathalie Ramos Bayas

GUAYAQUIL - ECUADOR

Año: 2018

DEDICATORIA

El presente proyecto está dedicado a mi madre Mariela Bravo por ser el pilar fundamental en mi vida, y por el esfuerzo realizado durante mi formación académica.

A mis hermanos Nobel Zambrano y Jostin Zambrano por su apoyo incondicional durante todo este tiempo.

A mis amigos por el apoyo y los ánimos brindados durante mi carrera.

A los docentes de la FCNM por compartir sus conocimientos para que podamos ser profesionales de excelencia.

Bryan Zambrano Bravo

Dedico este trabajo sin duda a Dios, que bendice y guía mi vida. A mi mamá que con su infinito amor me ha alentado los momentos turbulentos de mi vida estudiantil. A mi papá que me ha brindado la educación necesaria para ser lo que soy ahora. A mis hermanos Ruth, David y en especial a Sergio que me acompañaron en este camino. A mi abuelita que con sus consejos divinos ha estado atenta a mí. A Victor Merchán que se ha convertido en mi Fortaleza.

Andrea Ramos.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos primordialmente a Dios, que nos ha guiado por el camino correcto y por darnos salud para llevar a cabo este proyecto. Se agradece infinitamente a nuestro tutor, el Ph.D. Luis Domínguez, por compartir sus conocimientos y sugerencias para realizar con éxito este proyecto.

A las personas que conforman el laboratorio de Aguas, en especial se agradece cordialmente a la Ing. Andrea Rosado, por colaborarnos con indicaciones para realizar exitosamente los análisis en el laboratorio y por facilitarnos los reactivos requeridos.

A John Ramos, se le agradece profundamente por acompañarnos a las salidas de campo para tomar muestras en el Estero Salado, ya que su experiencia en el Manglar es extensa.

A la Dra. Olga González que nos mostró apoyo y nos permitió realizar los análisis de determinación de metales por espectrofotometría de absorción atómica en llamas en el Laboratorio de Espectrometría (LESPEC). Al Ing. Christian Salazar por ayudarnos a determinar metales en nuestras muestras.

Sin la ayuda y cooperación de las personas antes mencionadas no se hubiese podido llevar a cabo este proyecto.

Andrea Ramos y Bryan Zambrano

DECLARACIÓN EXPRESA

"Los derechos de titularidad y explotación, nos corresponde conforme al reglamento de propiedad intelectual de la institución; Andrea Nathalie Ramos Bayas y Bryan Gregorio Zambrano Bravo damos nuestro consentimiento para que la ESPOL realice la comunicación pública de la obra por cualquier medio con el fin de promover la consulta, difusión y uso público de la producción intelectual"



Andrea Nathalie Ramos Bayas



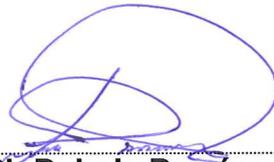
Bryan Gregorio Zambrano Bravo

EVALUADORES



M.Sc. Miriam Checa Artos

PROFESOR DE LA MATERIA



Ph D. Luis Dominguez Granda

PROFESOR TUTOR

RESUMEN

La deposición de partículas provenientes de la columna de agua forma naturalmente los sedimentos. Las actividades humanas, en muchas ocasiones, generan en dichos sedimentos un desequilibrio al aporte natural, causando impactos negativos en las masas de aguas receptoras. Es por esto que cada vez se hace más necesario el estudio del grado de toxicidad que poseen los sedimentos. La concentración de los metales en el agua intersticial depende en gran medida de los ligandos disponibles y de la afinidad de estos a unirse.

En condiciones libre de oxígeno, los sulfuros en el sedimento se convierten en los ligandos con mayor disponibilidad a unirse a los metales, dando paso a la formación de sulfuros metálicos insolubles.

La obtención de los sulfuros, medidos como sulfuros volátiles ácidos (AVS), se realizó mediante modificaciones de la técnica APHA 4500-s²⁻ J. Se determinó la concentración de AVS usando el espectrofotómetro VIS DR 3900, mientras que la de los SEM (Metales extraídos simultáneamente en el proceso, metales divalentes) se determinó mediante espectrometría de absorción atómica (EAA) en llama.

Se determinó la toxicidad a partir de la relación AVS - Σ SEM. También se comparó el método con un ensayo de toxicidad mediante bioindicadores, como la *Artemia Salina*. Los resultados obtenidos a partir ambos ensayos presentaron una correlación entre el porcentaje de eclosión de *A. salinas* y la relación AVS – Σ SEM. Done, La expresión Σ SEM-AVS dio menor a 1, lo que nos lleva a concluir que en los puntos de muestreo existe una biodisponibilidad limitada de metales.

Palabras Clave: sedimento, sulfuros volátiles ácidos, Metales Extraídos Simultáneamente, columna de agua.

ABSTRACT

The deposition of particles from the water column naturally forms sediments. In many cases, human activities generate generate an imbalance to the natural contribution in these sediments, causing negative impacts on the masses of receiving waters. This is why it is increasingly necessary to study the degree of toxicity sediments have. The concentration of the metals in the interstitial water is extremely dependent on the available ligands and the affinity of these to be bound.

Under oxygen-free conditions, the sulfides in the sediment become the ligands with greater availability to metals, giving way to the formation of insoluble metal sulphides.

The sulfides, measured as volatile acid sulfides (AVS), were obtained by technical modifications of the APHA 4500-s2-J technique. The concentration of AVS was determined using the VIS DR 3900 spectrophotometer, while that of the SEM (Metals extracted simultaneously in the process, divalent metals) was determined by flame atomic absorption spectrometry (EAA).

The toxicity was determined from the ratio AVS - Σ SEM. The method was also compared with a bioindicator toxicity test, such as *Artemia Salina*. The results are presented, along with the analysis of a relationship between the hatching percentage of *A. salinas* and the ratio AVS - Σ SEM. Fact, the expression Σ SEM-AVS gave less than 1, which concludes the sampling points have a limited bioavailability of metals.

Keywords: sediment, interstitial water, anoxic conditions, sulfides, volatile acids, metals extracted simultaneously.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	I
ABSTRACT	II
ÍNDICE GENERAL	III
ABREVIATURAS	VI
SIMBOLOGÍA.....	VII
ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
ÍNDICE DE TABLAS	X
CAPÍTULO 1	1
1. Introducción.....	2
1.1 Descripción del problema	3
1.2 Justificación del problema	5
1.3 Objetivos	7
1.3.1 Objetivo General	7
1.3.2 Objetivos Específicos.....	7
1.4 Marco teórico	8
1.4.1 Sedimentos.....	8
1.4.2 Biodisponibilidad	9
1.4.3 Metales Pesados en ambientes acuáticos	10
1.4.4 Efectos de la biodisponibilidad de metales pesados	12
1.4.5 Modelo de partición	12
1.4.6 Sulfuros volátiles ácidos	13
1.4.7 Metales Extraídos Simultáneamente.....	16
1.4.8 Relación de AVS - Σ SEM como indicador de biodisponibilidad.....	16
1.4.9 Limitaciones del Método AVS-SEM	18

1.4.10	Otra alternativa como indicador de biodisponibilidad	18
CAPÍTULO 2.....		22
2.	Metodología.....	23
2.1	Información General.....	23
2.2	Montaje del sistema para obtención de AVS	24
2.3	Puntos de muestreo	25
2.4	Mediciones in situ.....	26
2.5	Glove Box	26
2.6	Recolección, traslado y almacenamiento de Muestras	27
2.7	Preparación de Reactivos	29
2.8	Extracción de AVS Y SEM	29
2.8.1	Control de Errores	31
2.9	Mediciones Analíticas.....	31
2.9.1	Determinación de AVS.....	31
2.9.2	Determinación de SEM.....	32
2.9.3	Determinación de carbono orgánico	34
2.9.4	Hidrometría.....	34
2.10	Ensayo con <i>Artemias Salinas</i>	35
CAPÍTULO 3.....		36
3.	Resultados Y ANÁLISIS	37
3.1	Parámetros de calidad del agua y sedimento	37
3.2	Materia orgánica y carbono orgánico en el sedimento.....	37
3.3	Granulometría en el sedimento	38
3.4	Metales extraídos simultáneamente	39
3.4.1	Cadmio.	40
3.4.2	Níquel.	40

3.4.3	Cobre.....	41
3.4.4	Plomo.	42
3.4.5	Zinc.....	42
3.5	AVS y Σ SEM	43
3.6	Biodisponibilidad de metales pesados en sedimentos mediante la técnica de determinación de AVS	46
3.7	Relación de toxicidad en sedimentos por la relación AVS-SEM y por método con bioindicadores (<i>Artemia salina</i>)	47
3.8	Relación Σ SEM y Materia orgánica	49
CAPÍTULO 4		50
4.	Conclusiones y Recomendaciones	51
4.1	Conclusiones.....	51
4.2	Recomendaciones.....	53
BIBLIOGRAFÍA		54

ABREVIATURAS

ESPOL	Escuela Superior Politécnica del Litoral
AVS	Sulfuros volátiles ácidos
SEM	Metales Extraídos Simultáneamente
EAA	Espectrometría de Absorción Atómica
EF	Factor de Enriquecimiento
ESB	Equilibrio de partición de referencia de sedimentos
EqP	Partición de equilibrio
TOC	Carbono Orgánico Total
OC	Carbono Orgánico
LPM	Litros por minuto
SS	Sedimento seco
SSEM	Sumatoria de Metales Extraídos Simultáneamente. Equivalente a \sum SEM
OD	Oxígeno Disuelto

SIMBOLOGÍA

Kg	Kilogramo
mg	Miligramo
L	Litro
ml	Mililitro
NTU	Unidad nefelométrica de turbidez
pH	Potencial de Hidrógeno
mV	Milivoltio
μ S	Micro Siemens
H	Hora
Min	Minutos
Cu	Cobre
Ni	Níquel
Pb	Plomo
Zn	Zinc
Cd	Cadmio
Cr	Cromo
Hg	Mercurio
Co	Cobalto
Ag	Plata
Au	Oro
Fe	Hierro
Mn	Manganeso
FeS	Monosulfuro de hierro

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Diagrama de movilidad de metales pesados en suelo (Sánchez, 2003)	11
Figura 1.2 Fuentes potenciales de AVS (Rickard & Morse, 2005)	13
Figura 1.3 Interacción de los metales pesados en las fases sólidas y líquidas (Delbeke & Vangheluwe, 2008)	15
Figura 1.4 Mortalidad frente al término (SSEM-AVS) /foc (Di Toro <i>et al.</i> , 2000)	20
Figura 2.1 Sistema utilizado para la obtención de AVS	24
Figura 2.2 Puntos de muestreo en el Estero Salado. (Google Earth, 2018).....	25
Figura 2.3 Mediciones realizadas in-situ.....	26
Figura 2.4 Glove Box.....	27
Figura 2.5 Recolección, procesamiento y almacenamiento de las muestras	28
Figura 2.6 Vidriería remojando en solución de HNO ₃ (10%)	30
Figura 2.7 Espectrofotómetro utilizado para determinación de sulfuros.....	32
Figura 2.8 Filtración del extracto y determinación de metales en EAA	33
Figura 2.9 Proceso de Hidrometría.....	34
Figura 2.10 Incubación de <i>A. salinas</i>	35
Figura 3.1 Distribución de la materia orgánica en los puntos de muestreo	38
Figura 3.2 Concentración de Σ SSEM en los puntos de muestreo	39
Figura 3.3 Distribución de Σ SSEM en los puntos de muestreo	39
Figura 3.4 Concentración de Cd en diferentes profundidades	40
Figura 3.5 Concentración de Ni en diferentes profundidades	40
Figura 3.6 Concentración de Cu en diferentes profundidades	41
Figura 3.7 Concentración de Pb en diferentes profundidades	42
Figura 3.8 Concentración de Zn en diferentes profundidades	42
Figura 3.9 Comparación entre Σ SSEM-AVS y los puntos de muestreo	43
Figura 3.10 Concentración de AVS a diferentes profundidades	44
Figura 3.11 Coeficiente de variación de AVS a diferentes profundidades	45
Figura 3.12 Relación de SSEM-AVS y el porcentaje de eclosión de <i>A. salinas</i> en 18 h	47
Figura 3.13 Relación entre SSEM-AVS y el porcentaje de eclosión de <i>A. salinas</i> en 24 h	48
Figura 3.14 Porcentaje de eclosión de <i>A. salinas</i> en diferentes horas.....	48

Figura 3.15 Relación de la concentración de SSEM y el porcentaje de materia orgánica
.....49

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1 Procedimiento para determinar la biodisponibilidad de metales en sedimentos (Veses, 2010).....	17
Tabla 1.2 Modelo matemático mejorado para determinar la biodisponibilidad de metales en sedimentos (veces, 2010).	21
Tabla 2.1 Coordenadas de los puntos de muestreo.	25
Tabla 2.2 Ecuaciones de la curva de calibración para EAA.....	33
Tabla 3.1 Parámetros obtenidos in-situ	37
Tabla 3.2 Porcentaje de materia orgánica y CO en puntos de muestreo.	37
Tabla 3.3 Granulometría de las muestras de sedimento.	38
Tabla 3.4 Concentración de metales pesados, SSEM y AVS	43
Tabla 3.5 Biodisponibilidad de metales pesados en los puntos de muestreo.	46

CAPÍTULO 1

1. INTRODUCCIÓN

La presencia de metales pesados en ecosistemas acuáticos representa un problema en cuanto a contaminación se refiere. Generalmente la concentración de metales disueltos en las aguas superficiales es baja ya que estos forman ligandos con otros compuestos y predominantemente se depositan en forma de precipitados en el fondo de la columna de agua y pasan a formar parte de los sedimentos (Di Toro *et al.*, 1992).

Éstas y otras partículas se pueden introducir por acción de las corrientes en las masas de agua y se denominan partículas de origen alóctono. Mientras que aquellas que se han formado en el mismo cuerpo de agua por procesos biológicos de los seres vivos y por la precipitación de sustancias que estaban inicialmente disueltas son conocidas como partículas de origen autóctono (Hernández Crespo, 2013).

Así mismo el aporte de partículas hacia aguas superficiales puede ser debido a la diseminación y filtración de varios compuestos provenientes de la acumulación de desechos en zonas urbanas (Vullo, 2003). Además, este aporte puede provenir de actividades humanas como el pastoreo, la construcción o la descarga de aguas contaminadas. Aunque también estas partículas pueden ser de origen natural, debido a la erosión natural del suelo (Hernández Crespo, 2013a).

Experimentos realizados anteriormente muestran efectos biológicos relacionados con la presencia de metales divalentes en sedimentos. También se conoce que diferentes sedimentos presentan grados de toxicidad variables para la misma cantidad total de un metal. Por lo tanto, para evaluar la potencial toxicidad por metales en un cuerpo de agua es necesario realizar análisis a los sedimentos, determinando la concentración de metales pesados y conociendo la fracción que puede ser biodisponible (Di Toro *et al.*, 1992).

Es importante contar con criterios que ayuden a determinar los niveles de toxicidad de un ecosistema, ya sea realizando análisis a la fase acuosa o al fondo marino. Para ello se han desarrollado criterios de calidad de sedimentos, en los que se puede predecir la toxicidad y biodisponibilidad de metales. Esto se puede conseguir

realizando análisis como: Determinación de contaminantes en agua intersticial, Contaminantes orgánicos hidrofóbicos y la relación SEM-AVS (Simpson, Batley, & Chariton, 2013).

1.1 Descripción del problema

El sistema conformado por el río Guayas y el Estero Salado constituyen el estuario interior del Golfo de Guayaquil. El Estero Salado inicia desde la ciudad de Guayaquil hasta el Canal del Morro. Esta gran masa de agua rodea 14 islas, islotes y varias comunidades aledañas al estuario. Varias de estas comunidades e islas se encuentran en los costados del río, por lo que hacen uso de este cuerpo de agua, ya sea para uso doméstico, industrial o pesca.

A lo largo de los años la contaminación en el Estero Salado se ha visto incrementada, generando muchos problemas ya sea al ambiente o a las comunidades. Fernández (2014), calculó el factor de enriquecimiento (EF) por metales en 10 estaciones del estero salado, obteniendo valores mayores a 1.5 Esto indica que la procedencia de la contaminación por metales no es proporcionada por completo por la contribución de la corteza, sino que más bien, una porción significativa es de origen no natural.

Comparado con otros manglares de actividad industrial reconocida, permite suponer que los altos niveles de metales en el Estero Salado se deben a un origen antropogénico (Ej.: industrial, descarga de aguas residuales).

Además, se sabe que, en los últimos 20 años, en el Estero Salado se han descargado aguas de alrededor de 190 industrias, de las cuales 136 incumplen con las normas técnicas ambientales (Muñoz, 2013). Las actividades industriales generan a gran escala contaminación con metales pesados (Cu Zn, Pb, Cd, Cr, Ni, Hg, Co, Ag, Au) en el medio ambiente. En el caso de los cuerpos de agua superficiales y acuíferos, pueden llegar a comprometer seriamente el uso de este recurso como fuente de agua para el consumo humano (Sánchez Bascones, 2003).

Los metales son especies químicas no degradables, es por eso que, una vez introducidos al medio ambiente, pueden únicamente distribuirse entre los entornos suelo-agua-aire, algunas veces cambiando su estado de oxidación y otras incorporándose en los seres vivos.

La aparición de complejos formados y el proceso de adsorción en medios naturales son los principales responsables de que los metales pesados, en su mayoría, se acumulen en los sólidos suspendidos, sumergiéndose de manera rápida en los sedimentos. Esto nos lleva a decir que el lugar donde se encuentran los más altos niveles de concentración de contaminantes por metales está en los sedimentos, los cuales juegan un papel muy importante en la regulación de la calidad del agua (Vullo, 2003).

Una vez que los metales se han depositado en el sedimento se vuelven aún más peligrosos, ya que se acumulan en los tejidos de organismos de estratos más bajos y afectan la cadena alimenticia de los organismos que se alimentan de ellos. De esta manera las cantidades de metales van en aumento por medio del proceso de bioacumulación (Casanova, 2014).

Alcívar y Mosquera (2011) afirman que la presencia de metales pesados en gasterópodos es alta. Su estudio en 5 puntos del estero salado determinó la presencia de metales pesados en organismos de la especie *Cerithidea valida*, obteniendo concentraciones de Plomo, Cadmio y Cromo de 41,08 ppm, 3,5 ppm y 7,99 respectivamente.

Los metales en los sedimentos forman compuestos con los sulfuros provenientes de la reducción de los sulfatos mediante las bacterias presentes en los sedimentos, por lo que es necesario evaluar la disponibilidad de sulfuros para precipitar los metales acumulados. Esto se puede realizar mediante la determinación de los AVS, utilizando indicadores que miden la

biodisponibilidad de dichos metales en los cuerpos estuarinos (Allen *et al.*, 1992).

La alteración del suelo marino puede provocar un desequilibrio, con el cual muchos metales se liberan, aumentando considerablemente su concentración en los cuerpos de agua. Para evitar dicha alteración es necesario realizar estudios considerando el impacto que se generaría hacia el ecosistema acuático. Un ejemplo de ello es la alteración del suelo debido al dragado, las alteraciones naturales que se dan por movimientos del suelo marino, entre otras.

La falta de protocolos para la determinación de los AVS en sedimentos estuarinos en el país conlleva al desconocimiento de parámetros requeridos para estimar la toxicidad de metales pesados en cuerpos de agua. Esto puede vulnerar tanto al ecosistema acuático como a las especies endémicas, además de otros potenciales usuarios de este recurso hídrico contaminado con metales pesados.

1.2 Justificación del problema

La sedimentación en zonas estuarinas se debe en gran medida a la deposición de partículas que han sido arrastradas por la corriente, las cuáles transportan materiales suspendidos o sustancias procedentes de vertidos. Éstos vertidos pueden ser de origen industrial sin haber sido tratados previamente.

Los cuerpos de agua estudiados son focos de contaminación debido a las actividades humanas, las mismas que generan impactos negativos en las aguas receptoras, produciendo un desequilibrio del aporte natural de los sedimentos que se formaron por la precipitación de partículas desde la columna de agua (Hernández Crespo, 2013).

La calidad de los sedimentos se ve afectada por la tendencia de los metales pesados a precipitarse, por lo que estos juegan un papel importante en la calidad del agua.

La predicción de la biodisponibilidad y la toxicidad de los metales en sedimentos acuáticos es un componente crítico en el desarrollo de los criterios de calidad del sedimento (Berry *et al.*, 1996).

Actualmente la legislación ecuatoriana no cuenta con criterios de calidad de sedimentos que indiquen o que permitan estimar la biodisponibilidad de metales en los cuerpos de agua de ambientes estuarinos, mediante la determinación de AVS.

La concentración de sulfuros en sedimentos establece el límite en el que los metales dejan de mostrar una toxicidad aguda en los sedimentos (Di Toro *et al.*, 1992). Es por esto que se hace necesario la implementación de un método validado que ayude en este aspecto mencionado anteriormente.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Implementar una metodología para la determinación de la concentración de sulfuros volátiles ácidos presentes en sedimentos del Estero Salado, analizando su influencia sobre la potencial biodisponibilidad de metales.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Establecer los factores adecuados y el diseño del sistema para la extracción de AVS y SEM, mediante la utilización de materiales y equipos de laboratorio de acuerdo con indicaciones de la técnica APHA 4500-S2- J.
- Implementar el método establecido en muestras reales recolectadas en tres puntos del estero salado para determinar la toxicidad en las mismas, mediante la relación AVS-SEM.
- Evaluar la correlación de los resultados obtenidos por este método, con resultados de toxicidad observada mediante bioensayo con *Artemia salina*.

1.4 Marco teórico

1.4.1 Sedimentos

Se denomina sedimentos al material fragmentado que principalmente se forma por desintegración física y química de las rocas que se encuentran en la corteza terrestre. Estas partículas varían en tamaño y van desde grandes rocas hasta fragmentos muy pequeños (van Rijn, 1993).

Los sedimentos se pueden clasificar de acuerdo a su origen genético:

- Sedimentos litogénicos, este tipo de sedimentos se forman a partir de la desintegración de rocas preexistentes.
- Sedimentos biogénicos, son formados a partir de restos de organismos y su composición principal es de carbonato, ópalo y fosfato de calcio.
- Sedimentos hidrogénicos, son precipitados del agua de mar o del agua intersticial resultado de reacciones químicas.

Entre las partículas que forman los sedimentos se encuentran los metales, provenientes de la desintegración de minerales y actividades antropogénicas. Esta última es en muchos casos la causa más frecuente del incremento de metales pesados en el suelo (Sánchez Bascones, 2003).

Un estudio reciente en el estero salado reporta valores altos de concentraciones de metales pesados en el sedimento, Cadmio y Plomo con valores de 0,072 ppm y 0,261 ppm, aludiendo que se debe al mal manejo de los desechos sólidos vertidos en los cuerpos de agua, además de aguas sin tratamiento proveniente de industrias cercanas (Pernía Santos *et al.*, 2018).

Las actividades humanas que más producen partículas metálicas son la agricultura, debido al uso de fertilizantes, y la industrial, la cual descarga sus efluentes directamente en las aguas superficiales (Blume *et al.*, 2010).

1.4.1.1 Química de los sedimentos

El comportamiento químico y la biodisponibilidad de contaminantes puede ser controlada por la geoquímica del sedimento y las condiciones de pH y redox asociadas al agua intersticial. La cantidad de metal biodisponible en los sedimentos es comúnmente más pequeña que la concentración total y está relacionada con el enlace de metales con sulfuros, partículas de carbón orgánico, fases sólidas de óxido hierro y manganeso (Simpson, Batley, & Chariton, 2013).

En los sedimentos óxicos las fases más importantes de los compuestos metálicos son la materia orgánica, el hierro hidratado y los óxidos de manganeso. Mientras que, en sedimentos anóxicos, muchos metales están fuertemente enlazados con minerales de sulfuro, incluyendo la pirita y las fases más reactivas de los AVS como el monosulfuro de hierro (FeS). Estas fases de enlaces metálicos también están relacionados con el tamaño de partícula, aumentando en sedimentos con mayores porciones de arcilla fina (Simpson, Batley, & Chariton, 2013).

1.4.2 Biodisponibilidad

Se entiende por biodisponibilidad a la combinación de factores fisicoquímicos que rigen el comportamiento de los metales y de la parte biótica, es decir la ruta de entrada, duración y frecuencia de exposición. Es decir, la biodisponibilidad refleja lo que realmente está experimentando el organismo en la columna de agua (WCA Environment, 2014).

Los contaminantes en los cuerpos de agua se encuentran disponibles para los organismos acuáticos a través de la ingesta de alimentos, transporte o la difusión pasiva en el agua. La tasa de absorción de contaminantes varía por cada especie. El grado de biodisponibilidad del contaminante está determinado por la reactividad de cada contaminante con la interfaz

biológica. La presencia de químicos y factores como la temperatura pueden estimular la absorción de contaminantes.

Algunos metales biodisponibles pueden provocar la inactivación química de las enzimas y unirse con proteínas, dañar células provocando la interrupción de las vías metabólicas (Eggleton & Thomas, 2004).

1.4.3 Metales Pesados en ambientes acuáticos

Se consideran metales pesados a un grupo de elementos químicos que presentan una alta densidad (mayores a 6g/ml) o que su número atómico sea mayor a 20, sin considerar elementos de familia IA y IIA (Facsá, 2017).

La presencia de metales pesados en ambientes acuáticos se origina por procesos de degradación natural mediante la erosión del suelo, o por actividades antropogénicas ya sean estas industriales o agrícolas (Sánchez Bascones, 2003).

En procesos de degradación natural, durante la erosión del suelo el tipo de metal que se libera depende del tipo de roca y de las etapas que antecedieron a la degradación de esta. Así también, diferentes rocas tendrán diferentes concentraciones de metales, aquellas que contribuyen una mayor cantidad de metales son las rocas ígneas, mientras que las que proveen de menores cantidades de metal son las rocas sedimentarias (Sánchez Bascones, 2003).

A pesar de la presencia de metales en los suelos a partir de procesos naturales, éstos no llegan a superar los límites de toxicidad, encontrándose de tal manera que son poco asimilables por los organismos.

En la mayoría de los ambientes acuáticos, la concentración de metales disueltos en aguas superficiales es baja debido a que éstos tienden a precipitarse como partículas sólidas en el sedimento.

La toxicidad y el destino de los metales dependerá de la distribución de metales entre el sedimento y el agua porosa. Factores como el pH, oxígeno disuelto, salinidad, cantidad de sólidos suspendidos pueden afectar la solubilidad de los metales (Atkinson, Jolley, & Simpson, 2007).

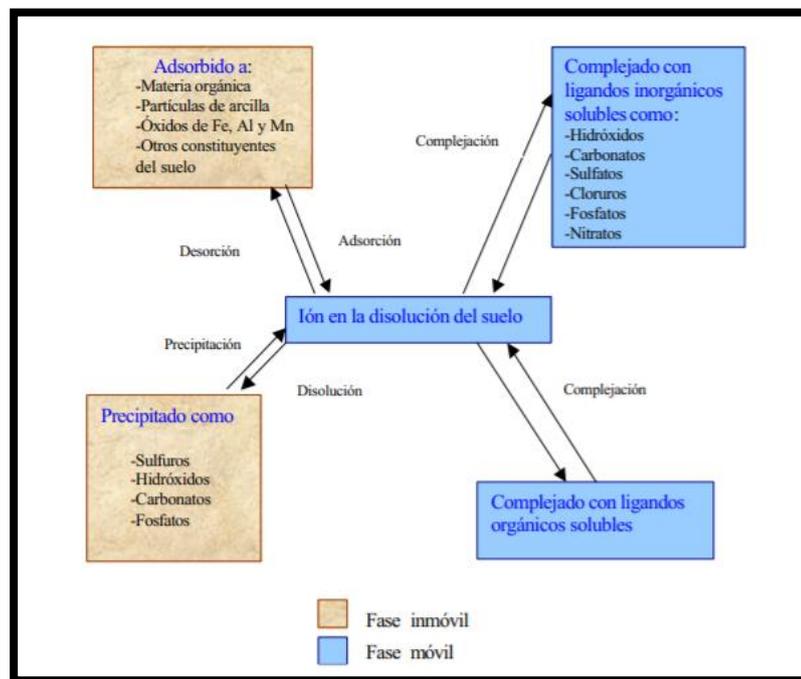


Figura 1.1 Diagrama de movilidad de metales pesados en suelo (Sánchez, 2003)

La alteración del suelo marino también es un factor que afecta la solubilidad de metales al provocar la liberación de aquellos que antes se encontraban precipitados en la superficie del fondo marino.

Estudios previos demuestran que los metales se liberan más rápido en sedimentos alterados por perturbaciones físicas en comparación con las perturbaciones biológicas (bioturbación) (Atkinson *et al.*, 2007). El oxígeno disuelto es un factor importante en los cuerpos de agua, ya que a bajas concentraciones de oxígeno disuelto los metales liberados eran retenidos más lentamente.

Los metales pesados se pueden clasificar en dos grupos. Aquellos que son necesarios para desarrollar funciones vitales dentro de los organismos son conocidos como oligoelementos, y se vuelven tóxicos cuando superan cierto umbral, aquí se encuentran metales como: As, B, Co, Cr, Mo, Mn, Ni, Se, Zn. El otro grupo está conformado por metales que al estar presente en los seres vivos provocan algunas disfunciones en su metabolismo, por lo general estos metales son: Cd, Hg, Pb, Cu, Sb, Bi (Sánchez Bascones, 2003).

1.4.4 Efectos de la biodisponibilidad de metales pesados

La acción directa de los metales pesados sobre los seres vivos ocurre mediante el bloqueo de las actividades biológicas. Los metales forman enlaces con los grupos –SH (Sulfhídricos) de las proteínas e inactivan las acciones enzimáticas del organismo, causando todo esto daños irreversibles. Para que los metales pesados ejerzan su toxicidad sobre los seres vivos, deben encontrarse disponibles como para ser captados por ellos, es decir, los metales deben estar biodisponibles (Vullo, 2003).

1.4.5 Modelo de partición

El modelo de partición constituye la base para el desarrollo de los estándares de calidad de sedimentos. El modelo establece que se puede predecir cómo están distribuidos los metales dentro del sedimento. Esto se logra asumiendo que existe un equilibrio dinámico entre las fases de agua intersticial y las fases sólidas del sedimento, basándose en sus propiedades químicas y físicas (Di Toro *et al.*, 1992).

En base al modelo de partición fue posible implementar métodos que permiten realizar análisis al sedimento, y determinar la fracción de metal biodisponible que allí se encuentra. Estos métodos han sido descritos por varios autores, entre los que se encuentran la determinación de AVS, SEM, carbono orgánico, organismos bentónicos y análisis al agua intersticial.

Determinando así el umbral en el que la concentración de metales se vuelve peligrosa para la biota.

1.4.6 Sulfuros volátiles ácidos

Los sulfuros volátiles ácidos en los sedimentos representan un factor clave para la biodisponibilidad de metales. Las fuentes de AVS se observan en la figura 1.2. La medición de AVS es operacionalmente simple por lo que es usada ampliamente por la comunidad marina y áreas relacionadas el ambiente (Rickard & Morse, 2005).

Los AVS generalmente se refiere al compuesto sulfuro de hidrógeno (H_2S), aunque antiguamente algunos autores se referían al compuesto de sulfuro de hierro (FeS o FeS_2), por lo que se toman como sinónimos. En el siguiente diagrama se muestran las posibles fuentes de AVS.

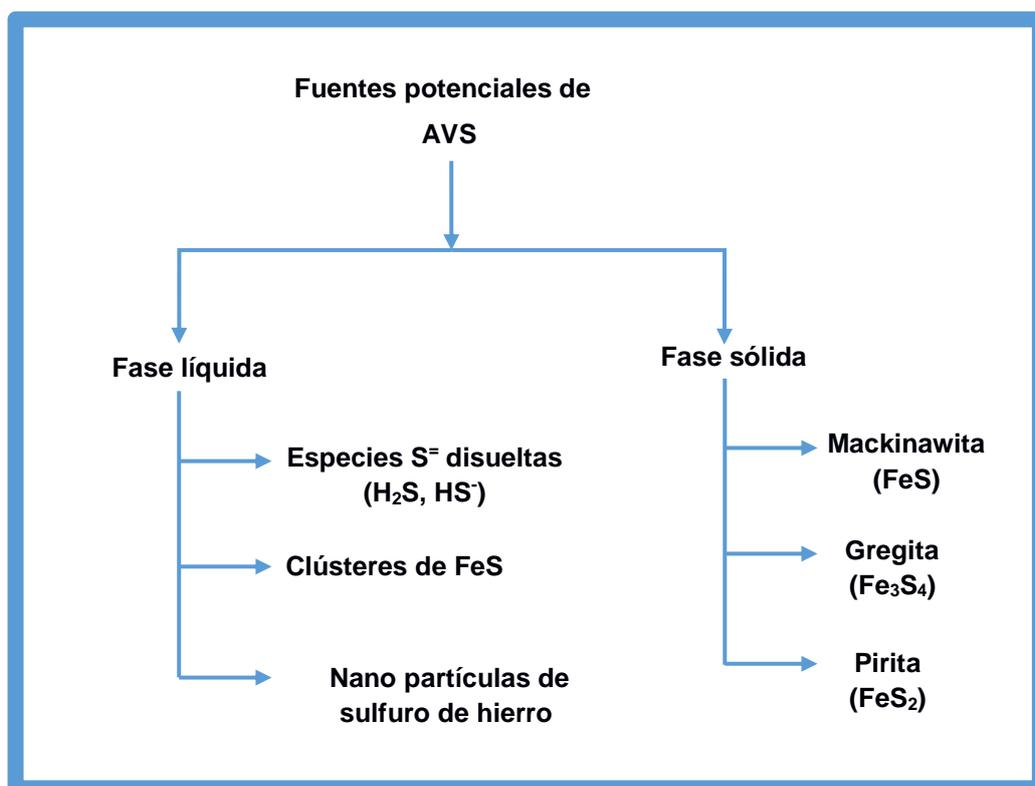


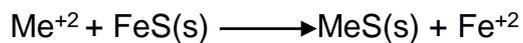
Figura 1.2 Fuentes potenciales de AVS (Rickard & Morse, 2005)

En los sedimentos anóxicos, especialmente en los sistemas de agua dulce, humedales y cuencas euxínicas, la zona rica en

sulfuros se presenta como una capa, con espesor muy fino, de color negro (Rickard & Morse, 2005).

Se ha considerado que la concentración de Fe (II) disuelto en la zona del sedimento está controlada por la solubilidad del monosulfuro de hierro (compuesto formado por H₂S y Fe (II)), siendo este compuesto el componente mayoritario en AVS para la formación de sulfuros metálicos, tal y como lo muestra la siguiente reacción:

(Simpson, Batley, & Chariton, 2013).



1.4.6.1 Oxidación de Sulfuros volátiles ácidos en sedimentos

Las condiciones redox de los sedimentos suelen estar estratificadas y se dividen en zonas óxicas, sub-óxicas y anóxicas (Figura 1.3).

En la zona óxica, se encuentran los sedimentos superficiales en los que penetra el oxígeno disuelto; los sedimentos sub-óxicos que son los que contienen en equilibrio mezclas de Mn disuelto (II) y Fe (II) con Fe (III) y fases de hidróxido de manganeso (IV), además de contener soluciones insignificantes de oxígeno o azufre; y en los sedimentos anóxicos predominan los azufres disueltos y los AVS.

Las fases de AVS pueden persistir en los sedimentos superficiales, formarse en condiciones anóxicas o llevarse a la superficie a través de bioturbación; sin embargo, una exposición continua con oxígeno disuelto puede producir una oxidación de AVS y con ello transferir los metales a formas más biodisponibles (Simpson, Ward, Strom, & Jolley, 2012).

La oxidación es producto de la inestabilidad de estos compuestos frente al contacto con oxígeno. De hecho, la naturaleza lábil de los monosulfuros de hierro (considerados como AVS) han llevado a cuestionar la utilidad práctica de usar los AVS como base para un ESB (Equilibrio de partición de referencia de sedimentos) derivado de EqP (Partición de equilibrio) para metales. (Luoma & Carter, 1993).

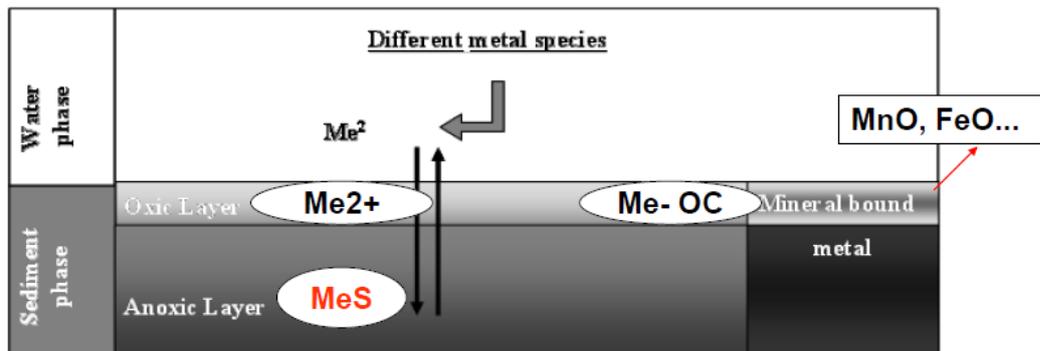


Figura 1.3 Interacción de los metales pesados en las fases sólidas y líquidas (Delbeke & Vangheluwe, 2008)

1.4.6.2 Factores que varían los AVS

Se ha observado que existen variaciones espaciales (en profundidad) en las concentraciones de AVS. Es así que la mayoría de estudios indican que en la superficie hay menos concentración de AVS en relación a los sedimentos más profundos (Boothman *et al.*, 1996). Esto se debe a la oxidación de AVS (FeS principalmente) en la superficie del sedimento.

Debido a la naturaleza de los AVS, estos a menudo tienden a formarse a pocos centímetros de la superficie de sedimentos anóxicos. Pero al aumentar la profundidad disminuyen a concentraciones casi indetectables, esto ocurre dentro de los primeros 20 cm de profundidad e incluso menos (Rickard & Morse, 2004).

Además de variar con la profundidad, los AVS pueden variar según la estación del año. Por ejemplo, durante los meses de clima frío el agua sobrenadante en los sistemas acuáticos contiene una cantidad de oxígeno

apreciable y los AVS tienden a disminuir (Hansen *et al.*, 2005). Se presume que esto está vinculado con la disminución de la generación de bacterias reductoras de sulfato.

1.4.7 Metales Extraídos Simultáneamente

Los SEM se determinan como la sumatoria de las distintas concentraciones de los metales: $\sum(\text{Cu, Ni, Pb, Zn, Cd})$, que son liberados durante el tratamiento de la determinación de AVS. Estos metales se encuentran débilmente asociados a los sedimentos, es decir, no se incorporan en las matrices cristalinas. Los AVS y los SEM reaccionan para formar los sulfuros metálicos insolubles, los cuales no están disponibles para la absorción por organismos bentónicos (Hinkey & Zaidi, 2007).

1.4.8 Relación de AVS - Σ SEM como indicador de biodisponibilidad

La comparación de las concentraciones de AVS y SEM obtenidas sirven como indicador de la cantidad de metales biodisponibles en los sedimentos. Si la concentración de AVS es mayor a la de los SEM, la probabilidad de que los metales estén en forma de sulfuros metálicos es alta, produciendo una limitada biodisponibilidad. Sin embargo, si los AVS son menores a los SEM, estos pueden llegar a ser o no tóxicos, dependiendo de otros factores como el carbono orgánico presente en el sedimento (Veses, 2010).

Los primeros estudios que se realizaron sobre la determinación de AVS para predecir los efectos biológicos en los sedimentos han implicado relaciones entre AVS y Σ SEM, muchas veces expresadas como Σ SEM/AVS. Los estudios posteriores, en cambio, presentaron ventajas en el uso de la diferencia de AVS y Σ SEM, expresada como SEM-AVS (Berry *et al.*, 1996). Ambas expresiones, tanto Σ SEM/AVS \leq 1 como Σ SEM-AVS \leq 0 son funcionalmente equivalentes, ya que ambas indican un exceso de AVS sobre Σ SEM.

En el presente estudio se plantea el procedimiento de un modelo entre AVS y Σ SEM descrito en la tabla 1.2 (Sánchez Bascones, 2003).

Tabla 1.1 Procedimiento para determinar la biodisponibilidad de metales en sedimentos (Veses, 2010)

Método 1	• Σ SEM/AVS > 1 → Peligro Potencial (Determinar carbono orgánico)
	• Σ SEM/AVS = 1 → Valor Límite
	• Σ SEM/AVS < 1 → Biodisponibilidad muy limitada
Método 2	• Σ SEM-AVS > 0 → Peligro Potencial (Determinar carbono orgánico)
	• Σ SEM-AVS = 0 → Valor Límite
	• Σ SEM-AVS < 0 → Biodisponibilidad muy limitada

Es importante determinar el carbono orgánico en caso de que Σ SEM > AVS. Esto se debe a que la materia orgánica puede tener carga negativa y reaccionar con los metales divalentes. Por tal motivo se determina su relación para la determinación de biodisponibilidad de metales.

1.4.8.1 Ventajas de usar la relación Σ SEM-AVS

Las ventajas de usar Σ SEM-AVS se dan debido a que no aumentan tanto cuando las cantidades de AVS son muy bajas (como lo hace la expresión de relación). Además, se puede usar para desarrollar relaciones de división que incluyen otras fases, como el caso del Carbono orgánico total (TOC) (Hernández Crespo, 2013).

Por lo cual la diferencia Σ SEM-AVS es el método más recomendado, el mismo que se usará en la realización de este estudio, exceptuando cuando se mencione datos históricos de la teoría de AVS porque originalmente se presentaron de esa forma.

1.4.9 Limitaciones del Método AVS-SEM

El método de determinación de AVS y SEM ha demostrado con el tiempo ser un método eficiente de evaluación de riesgo ecológico (Berry *et al.*, 1996). Sin embargo, actualmente tiene algunas limitaciones. La concentración de AVS puede variar cuando las condiciones ambientales (tales como pH, contenido de oxígeno, etc.) cambien, produciendo que los sedimentos que no contienen toxicidad biológica lo tengan. La oxidación de los AVS es otra de las limitaciones, ya que al hacerlo libera metales en la columna de agua (Hammerschmidt & Burton, 2010).

Durante su determinación, los AVS se pierden si entran en contacto con el oxígeno presente en aparatos o reactivos. Por esta razón el sistema debe purgarse por completo con un gas inerte, ya sea argón o nitrógeno, siendo el último de éstos el utilizado en este proyecto y el más accesible en el mercado.

La volatilización de los AVS en los sedimentos puede verse afectada por la matriz de sedimentos que puede consumir el ácido y aumentar el pH del sedimento. Esto se da más cuando el sedimento contiene altos niveles de carbonatos. Para ello se debe realizar análisis de forma periódica, aún más si se observa efervescencia durante la acidificación con HCl. De esta manera se asegura que el pH sea menor a 2 durante el tiempo de digestión (Fagnani, Guimaraes, Mozeto, & Fadini, 2011).

1.4.10 Otra alternativa como indicador de biodisponibilidad

Existe un segundo modelo matemático como indicador de biodisponibilidad que es aún mejor que el primero y se basa en la teoría de partición. Para este caso se toma en cuenta la materia orgánica natural del sedimento, cuya carga suele ser negativa y pueden reaccionar con los metales divalentes considerados en los SEM, limitando la biodisponibilidad de los

metales a los organismos bentónicos que habitan en el sedimento. Este modelo se usa en el caso de que $SEM/AVS > 1$ o que $SEM - AVS > 0$.

El modelo de partición facilita la base para la determinación de las concentraciones en los sedimentos, prediciendo la toxicidad o la ausencia de toxicidad en el mismo (Di Toro *et al.* 1991). La concentración en el sedimento C_s ($\mu\text{mol/Kg}$ sedimento seco) corresponde a una Concentración letal LC_{50} ($\mu\text{mol/L}$) expuesta únicamente en agua, expresada por la ecuación:

$$C_s = K_p \times LC_{50} \quad (1.1)$$

Donde K_p es el coeficiente de partición entre el sedimento y el agua intersticial del sedimento (L/Kg). Para el caso de los metales divalentes que forman compuestos insolubles con los sulfuros, la relación entre los SEM y los AVS puede expresarse de la siguiente manera:

$$\sum SEM = AVS + K_p \times LC_{50} \quad (1.2)$$

Este método se centra en comprobar si el término $K_p \cdot LC_{50}$ es despreciable o no. En el caso que se desprece, la concentración vendría dada por la siguiente expresión, la cual pertenece al método anterior.

$$\sum SEM = AVS \quad (1.3)$$

La clave que nos ayuda a mejorar la predicción de toxicidad es la aproximación del coeficiente de partición K_p . Un factor importante en el análisis de biodisponibilidad de metales es el carbono orgánico, ya que éste se asocia con la materia orgánica natural, y a su vez ésta con los iones metálicos con carga positiva.

Es por esto que el coeficiente de partición K_p puede expresarse en función del coeficiente de partición del carbono orgánico (K_{OC}), además de la fracción de carbono orgánico (f_{OC}), quedando de la siguiente manera:

$$Kp = f_{oc} \times K_{oc} \quad (1.4)$$

La fracción de carbono orgánico (f_{oc}) es calculado como el %TOC (Carbono Orgánico Total) /100. Esta fracción cuantifica la cantidad de materia orgánica natural disponible para formar compuestos con los metales, es así que, cuanto mayor sea el valor de f_{oc} , la cantidad de complejos formados será también mayor, provocando que los metales libres (Biodisponibles) sean menores. Reemplazando las ecuaciones anteriores y reordenando los términos se obtiene los siguiente:

$$\frac{\sum SEM-AVS}{f_{oc}} = K_{oc} \times LC50 \quad (1.5)$$

Cuando el término $\frac{\sum SEM-AVS}{f_{oc}}$ sea mayor al término $K_{oc} \times LC50$, la concentración de metales crítica para el sedimento se elevaría a gran escala y se prevería la toxicidad de este. Según estudios realizados anteriormente (Di Toro *et al.* 2000, McGrath *et al.* 2002) el valor límite que se ha encontrado para predecir la toxicidad se cifra en 150 $\mu\text{mol/g OC}$, estos estudios relacionan la mortalidad de especies bentónicas y el término:

$$\frac{\sum SEM-AVS}{f_{oc}} \quad (1.6)$$

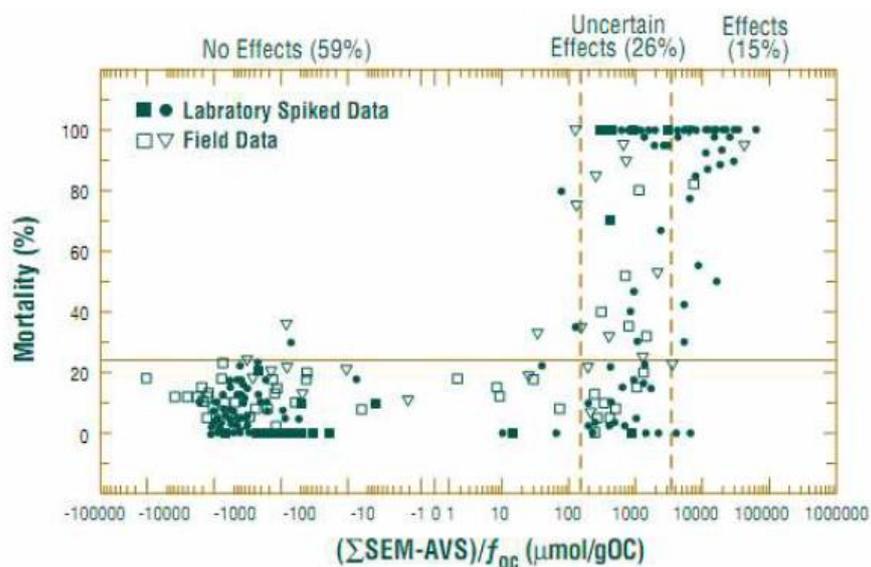


Figura 1.4 Mortalidad frente al término $(\sum SEM-AVS)/f_{oc}$ (Di Toro *et al.*, 2000)

En la Figura 1.4, se esquematiza una tabla que indica la biodisponibilidad de metales en sedimentos según este modelo matemático estudiado.

Tabla 1.2 Modelo matemático mejorado para determinar la biodisponibilidad de metales en sedimentos (vecas, 2010).

Método 3	$\frac{\sum SEM - AVS}{foc} > 150, Peligro Potencial$
	$\frac{\sum SEM - AVS}{foc} = 150, Valos \acute{l}mite$
	$\frac{\sum SEM - AVS}{foc} < 150, Biodisponibilidad muy limitada$

CAPÍTULO 2

2. METODOLOGÍA

2.1 Información General

En esta sección se da orientación a los procedimientos utilizados para poder ejecutar el muestreo, manejo y conservación de manera correcta a las muestras, además de la realización de análisis para determinar la concentración de metales y AVS en el sedimento.

El método para la extracción de AVS y SEM que se llevó a cabo en este proyecto es el descrito en la técnica 4500 S⁻² del Standar Methods. Sin embargo, debido a que este método no es reproducible entre laboratorios (Hammerschmidt & Burton, 2010), se tuvieron que considerar ciertas modificaciones. Se tomaron en cuenta algunos factores necesarios para establecer un procedimiento adecuado que permita extraer adecuadamente los AVS y SEM del sedimento en el laboratorio para luego determinarlos, entre los factores más importantes tenemos:

- Concentraciones y volúmenes de soluciones
- Tiempo de extracción
- Peso de sedimento húmedo
- Flujo de Nitrógeno

Según concentraciones y volúmenes recomendados en estudios anteriores (Allen *et al.*, 1992; Van Griethuysen, Gillissen, & Koelmans, 2002; Queiroz, Nóbrega, Otero, & Ferreira, 2018; Hovell, Lacerda, Rutledge Medeiros, & Rajagopal, 2007; Lasorsa & Casas, 1996; Huerta-Diaz, Tessier, & Carignan, 1998; Fang, Li, & Zhang, 2005; Gagnon, Mucci, & Pelletier, 1995) y al procedimiento presentado en el Standard Methods, se hizo una comparación de cada uno de los valores y se encontró las condiciones necesarias y las que satisfacen la extracción.

2.2 Montaje del sistema para obtención de AVS

Una vez se hayan conseguido cada uno de los materiales y equipos necesarios, se procedió a armar el sistema, ubicando de la mejor manera cada uno de los implementos, tomando las medidas de seguridad respectivas con el fin de evitar cualquier tipo de riesgo y evitar la contaminación de las muestras



Figura 2.1 Sistema utilizado para la obtención de AVS

Como se observa en la figura 2.1, el sistema consta de (1) tanque de nitrógeno ultrapuro (Linde 5.0), (2) balón fondo redondo para ebullición de pared gruesa 3 bocas a 45° 24/40, (3) adaptadores NS 24/40 con oliva recta, (4) tapa de vidrio 4/40, (5) clips esmerilado 24/40, (6) plancha de agitación, (7) trampas de gases y (8) Soporte universal; todo la vidriería perfectamente conectada con manguera neumática Festo (10 mm de diámetro) para el paso del nitrógeno en el sistema.

2.3 Puntos de muestreo

El muestreo se centró en tres puntos del Estero Salado (Fig. 2.2), los cuales se determinaron mediante datos almacenados de salidas de campo anteriores donde determinaron toxicidad por metales usando bioindicadores.

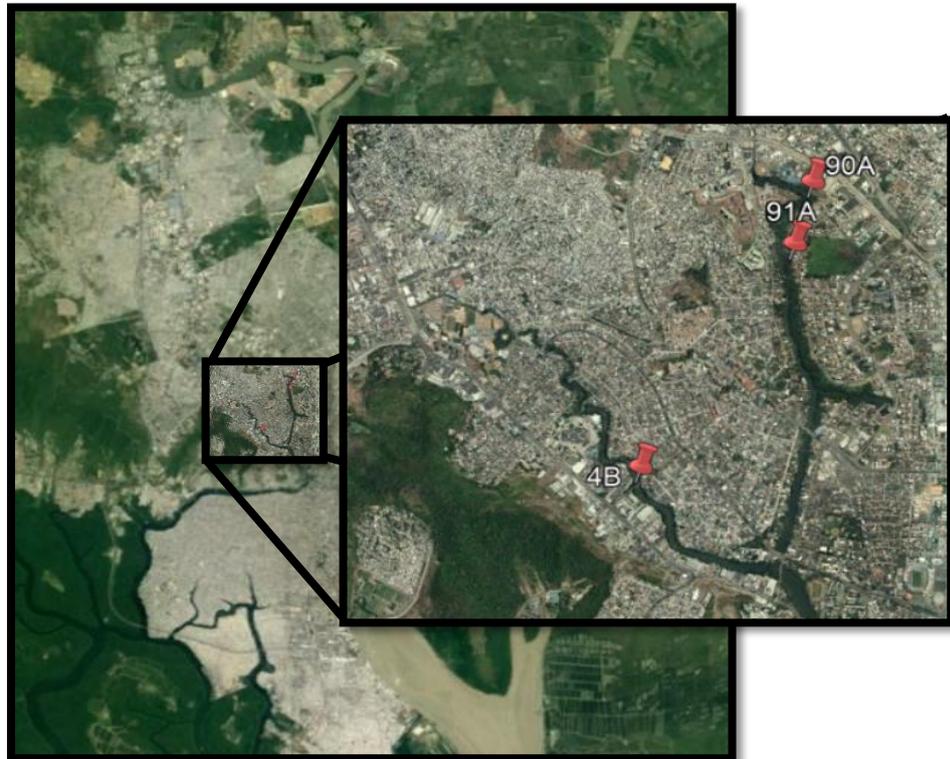


Figura 2.2 Puntos de muestreo en el Estero Salado.
(Google Earth, 2018)

Tabla 2.1 Coordenadas de los puntos de muestreo.

Zona de muestreo	Latitud	Longitud
90A	2° 9' 7.16" S	79° 54' 5.66" O
91A	2° 9' 22.95" S	79° 54' 9.95" O
4B	2° 10' 19.75" S	79° 54' 46.59" O

2.4 Mediciones in situ

En cada lugar de muestreo se realizaron mediciones de calidad de agua, tales como, Potencial Redox (E_H), salinidad, conductividad, oxígeno disuelto, pH, temperatura (Fig. 2.3). Estas mediciones se las realizaron utilizando el equipo Multisonda Hanna 2898 y 28121.



Figura 2.3 Mediciones realizadas in-situ

2.5 Glove Box

Utilizando materiales encontrados en ferreterías se elaboró una glove box, en la cual ingresa el nitrógeno y desplaza el aire en su interior, de tal manera que se obtiene una atmósfera con poco porcentaje de oxígeno, ideal para la homogenización de las muestras.

Para un desplazamiento casi total del aire se necesita realizar una purga, introduciendo un flujo de nitrógeno a 5 l/min durante aproximadamente 7 min, consiguiendo que la concentración de oxígeno baje de 8 ppm a 3 ppm, estos valores fueron medidos en el laboratorio con el equipo multiparámetros HANNA. Una vez transcurrido este tiempo se cerraron las válvulas de salida y entrada de gas y se realiza la debida homogenización.



Figura 2.4 Glove Box

2.6 Recolección, traslado y almacenamiento de Muestras

La precisión de la predicción de toxicidad según el método AVS-SEM es críticamente dependiente del muestreo y de la época del año en el que se lo ejecuta. Esto es debido a la inestabilidad del AVS lo que provoca que se oxide a causa de los procesos naturales en los sedimentos (Rickard & Morse, 2004), razón por la que se trató de que las muestras no estén en contacto con el aire durante su recolección, traslado y almacenamiento.

En primer lugar y antes de proceder a la recolección de muestras, los materiales que estuvieron en contacto con el sedimento se dejaron sumergidos en una solución de Ácido Nítrico al 10% (v/v) durante 24 horas a fin de eliminar cualquier residuo que pueda causar interferencia.

La recolección de muestras de sedimento se llevó a cabo insertando un núcleo de PVC de 50 cm de largo y 5 cm de diámetro. De manera rápida y enseguida se coloca la tapa superior y se presiona para levantar el núcleo, formando un vacío (Fig. 2.5). Una vez retirado el núcleo, se tapa en la parte inferior lo más rápido posible, evitando el contacto de las muestras con el aire.

Las muestras contenidas en los núcleos se colocaron en una hielera para su traslado al laboratorio, una vez en el laboratorio se procedió a cortar cada

núcleo en dos fracciones (0-12 cm y 12-24 cm), tratando de dejar el menor espacio vacío entre ellas (Fig. 2.5). Éstas fracciones fueron almacenadas y homogenizadas en fundas ziploc, de donde se extrajo la cantidad necesaria para los análisis (1,5 g aproximadamente), envolviendo y pesando dicha cantidad en papel Parafilm, y almacenándola en frascos previamente rotulados (Fig. 2.5). Esto último se lo realizó dentro de la glove box con atmósfera de nitrógeno, asegurándose que exista la menor cantidad de aire en los frascos que posteriormente fueron almacenados a temperaturas de 4°C.

Los sedimentos que no se analizaron de manera inmediata deberán mantenerse en los frascos sellados herméticamente y refrigerado a 4°C. En general, si los sedimentos son almacenados de esta forma el tiempo de almacenamiento puede prolongarse, sin exceder 14 días (Allen, Fu, & Deng, 1992).



Figura 2.5 Recolección, procesamiento y almacenamiento de las muestras

2.7 Preparación de Reactivos

Los reactivos que se prepararon, se los hizo con agua tipo 1 (Ultrapura) desgasificada por 20min para evitar posibles oxidaciones de los AVS. Las soluciones usadas en el proceso fueron:

- a) Solución de ácido clorhídrico 9N: 186 ml de HCl concentrado en 64 ml de agua.
- b) Solución de cloruro estañoso 0,53 M: 50 gramos de cloruro estañoso en 250 ml de la solución de HCl 9N.
- c) Solución de hidróxido de sodio 0,5N: 20 gramos de hidróxido de sodio en 1 litro de agua.
- d) Solución de acetato de zinc 0,25M, 22%: Disolver 55 gramos de acetato de zinc en 1 litro de agua desionizada.
- e) Solución de zinc alcalino: 150 ml de la solución de acetato de zinc al 22% en 850 ml de la solución de hidróxido de sodio 0,5N.

2.8 Extracción de AVS Y SEM

El proceso que se llevó a cabo para obtener AVS y SEM fue una extracción por contacto con ácido.

Cada vez que se armó el sistema para la obtención de AVS y SEM se procedió a dejar con anticipación sumergida la vidriería en una solución de ácido nítrico al 10% (v/v) (Fig. 2.6), con el fin de eliminar residuos que puedan causar contaminación.



Figura 2.6 Vidriería remojando en solución de HNO₃ (10%)

Una vez retirado el material de vidrio de la solución, se procedió a enjuagar dos veces con agua destilada y una vez con agua tipo 1 (Ultrapura). Luego todo el material fue secado con un secador manual y, una vez listo se procedió al montaje del sistema.

Ya con el sistema en orden (Fig.2.1), se colocaron las soluciones correspondientes en las trampas (100 ml Acetato de Zinc alcalino en cada una) y el balón (15 ml de cloruro estañoso 0,53 M). Se tapó y ajustaron las tapas de la vidriería con los clips para esmerilado. Se empezó la agitación y se dejó pasar un flujo de 5LPM de nitrógeno por 10 minutos, con el fin de purgar el sistema y desplazar todo el aire.

Una vez transcurrido este tiempo, se detuvo la agitación y se procedió a colocar la muestra contenida en el papel parafilm por la boca central del balón e inmediatamente se volvió a tapar y a colocar el clip correspondiente. Simultáneamente se reguló el flujo de nitrógeno al rango establecido de 40 a 60 ml/min. Se reanudó la agitación y se empezó a tomar el tiempo (3 horas) de digestión con un cronómetro.

Al momento de entrar en contacto la muestra con la solución de cloruro estañoso se volatilizan los sulfuros y estos son arrastrados a las trampas con la corriente de nitrógeno.

Cuando ya haya transcurrido el tiempo establecido, se cerró el flujo de nitrógeno y se procede a desarmar con cuidado el sistema, obteniendo de esta manera la extracción de AVS en las soluciones de las trampas y los SEM en la mezcla de sedimento con la solución del balón.

2.8.1 Control de Errores

Para otorgar validez a los resultados obtenidos experimentalmente en el laboratorio deben cumplir obligatoriamente con algunos requisitos. Entre los requisitos es fundamental que se incluya un blanco o control. Debido a la inexistencia de un sedimento estandarizado con concentración nula de AVS, se realizó un análisis con Agua tipo 1 en lugar de analizar sedimento. Debiéndose obtener valores cercanos a 0.

2.9 Mediciones Analíticas

Un importante aspecto para derivar los valores ESB es que los métodos que se lleven a cabo deben para implementar el enfoque, deben ser estandarizados razonablemente, o en tal caso, haber sido demostrados para producir resultados que se puedan comparar con el método estándar. (USEPA, 2005)

En este caso, el procedimiento se lo obtuvo del Standard Methods por lo que ya estaría estandarizado y se puede implementar tranquilamente.

2.9.1 Determinación de AVS

Un número de técnicas han sido usadas con éxito, entre ellas tenemos, método gravimétrico (Di Toro *et al.*, 1990), colorimétrico (Cornwell y Morse, 1987), gas cromatografía-detección de fotoionización y electrodos de iones específicos.

La concentración de AVS retenidos en las trampas fue medida utilizando el espectrofotómetro DR 3900 (Fig. 2.7), obteniendo así la concentración de sulfuros presentes en las soluciones, Mediante Test de Sulfuros



Figura 2.7 Espectrofotómetro utilizado para determinación de sulfuros

2.9.2 Determinación de SEM

Los metales extraídos quedan atrapados en la solución del balón mezclados con el sedimento añadido, por lo que se procedió a separar la fase líquida de la sólida mediante centrifugación (ROTOFIX 32A) del extracto de cada muestra por 30 minutos, colocándolo en un tubo centrífuga de 50 ml. Luego se extrajo el sobrenadante y se lo volvió a centrifugar por media hora más, logrando una clarificación del extracto.

Una vez clarificado se filtró el sobrenadante del tubo con un filtro de celulosa de 0.45 μm (Fig.2.8). Finalmente, se lo conservó en refrigeración hasta su respectivo análisis. El análisis de metales se realizó en un Espectrofotómetro de Absorción Atómica en llama (ICE 3300) (Fig.2.8)



Figura 2.8 Filtración del extracto y determinación de metales en EAA

Las ecuaciones de la curva de calibración se muestran en la siguiente tabla, juntamente con su valor de ajuste (Error). Además, se presentan los límites de detección para cada metal.

Tabla 2.2 Ecuaciones de la curva de calibración para EAA

Metal	Ecuación de recta de calibración	Ajuste (R^2)	Límite de detección
Cd	$Y=0,17343X+0,0008$	0,9989	0,0028
Ni	$Y=0,05189X+0,0002$	0,9998	0,008
Pb	$Y=0,02439X+0,0065$	0,9986	0,016
Cu	$Y=0,06824X+0,0009$	0,9988	0,0045
Zn	$Y=0,22765X+0,0050$	0,9989	0,0033

2.9.3 Determinación de carbono orgánico

Para la determinación de carbono orgánico se utilizará la ecuación (2.1), donde la materia orgánica se determinará mediante el método 2540G (APHA/AWWA/WEF, 2012).

$$\% \text{Carbono orgánico} = \frac{\% \text{ materia orgánica}}{1.724} \quad (2.1)$$

Donde, 1.724 es el factor de Van Bemmelen, que establece que en promedio el 58% de carbono está contenido en la materia orgánica (Veses, 2010).

2.9.4 Hidrometría

Determinar el tamaño de partículas es un análisis importante dentro del campo de estudio de suelos. Existe una gama de métodos que nos permiten llevar a cabo estos análisis, los cuales se identifican comúnmente por el medio. Entre ellos tenemos: Hidrómetro, pipeta, sensor de presión, rayos x, y el de difracción de rayos x láser (González *et al.*, 2007).

El método que se llevó a cabo para el análisis de granulometría en sedimentos fue el del Hidrómetro, siguiendo la norma ASTM 422.



Figura 2.9 Proceso de Hidrometría

2.10 Ensayo con *Artemias Salinas*

Un ensayo realizado por Corrales, 2017 utilizó *A. salinas* como bioindicadores para determinar la toxicidad en varios puntos del Estero Salado. Dicho ensayo fue realizado con muestras provenientes de las zonas consideradas en este proyecto, y así comparar resultados entre ambos métodos.



Figura 2.10 Incubación de *A. salinas*

CAPÍTULO 3

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1 Parámetros de calidad del agua y sedimento

Se tomaron mediciones de parámetros in-situ tanto al agua de campo como al sedimento, tales como oxígeno disuelto (OD), % saturación de oxígeno, conductividad, salinidad, pH; los cuales se presentan en la tabla a continuación.

Tabla 3.1 Parámetros obtenidos in-situ

Puntos de muestreo	90A	91A	4B
OD (mg/L)	1.38	2.64	1.69
% Saturación de OD	17.3	32.9	21.2
Conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	1853	1856	3594
Salinidad	0.94	0.87	1.88
Turbidez (NTU)	26.6	28	26
pH Sedimento	7.26	8.05	7.25
ORP Sedimento (mv)	-171	-77	-264

3.2 Materia orgánica y carbono orgánico en el sedimento

Se llevó a cabo el procedimiento para determinar el porcentaje de materia orgánica y el de carbono orgánico de cada muestra de los sitios de estudio, obteniendo los siguientes resultados:

Tabla 3.2 Porcentaje de materia orgánica y OC en puntos de muestreo.

Puntos	Profundidad (cm)	Materia Orgánica %	Carbono orgánico %
90A	0-12	4%	2%
90A	12-24	5%	3%
91A	0-12	6%	4%
91A	12-24	6%	3%
4B	0-12	3%	2%
4B	12-24	2%	1%

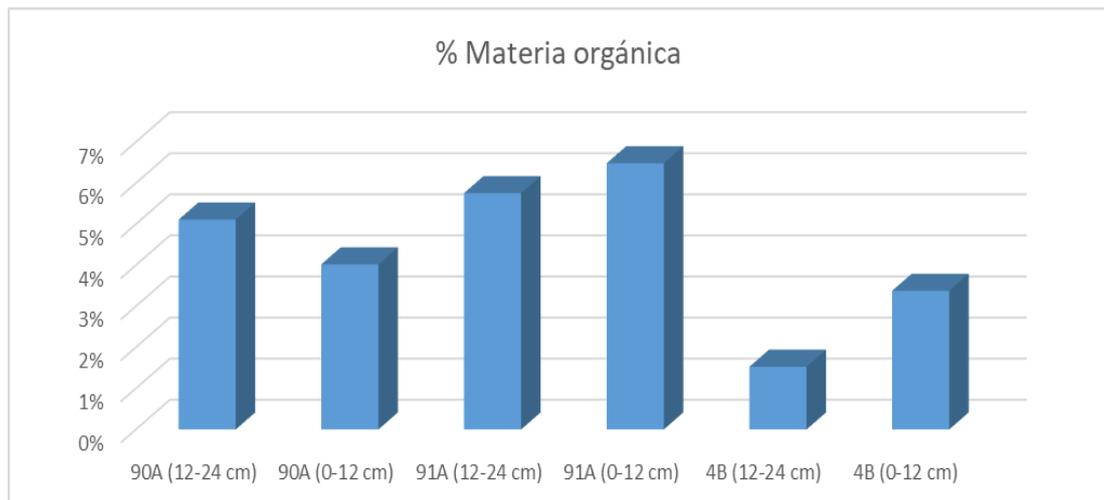


Figura 3.1 Distribución de la materia orgánica en los puntos de muestreo

3.3 Granulometría en el sedimento

Los resultados obtenidos para los tipos de suelos presente en el sedimento son representados en porcentaje y mostrados en la siguiente tabla:

Tabla 3.3 Granulometría de las muestras de sedimento.

Puntos	Profundidad (cm)	% Arena	%Finos	%Limo	% Arcilla
90A	0-12	2.7	89.87	73.03	16.85
90A	12-24	0.88	73.37	41.63	31.74
91A	0-12	7.23	20.59	11.88	8.71
91A	12-24	5.41	72.99	69.92	10.07
4B	0-12	36.19	34.766	28.39	6.38
4B	12-24	3.09	74.22	54.97	19.24

3.4 Metales extraídos simultáneamente

Las concentraciones totales de SEM en los 3 puntos se observan en la tabla 3.4, donde los valores se encuentran entre 1.318 ($\mu\text{mol/g SS}$) y 3.707 ($\mu\text{mol/g SS}$), pertenecientes a los puntos 4B y 90A respectivamente. El gráfico 3.2 pone en evidencia, que la mayor cantidad de SEM se encuentra en los puntos 90A y 91A, los cuales son pertenecientes a un mismo ramal. Mientras que los valores más bajos de SEM se localizan en el punto 4B teniendo valores por debajo de 2.2 ($\mu\text{mol/g SS}$).

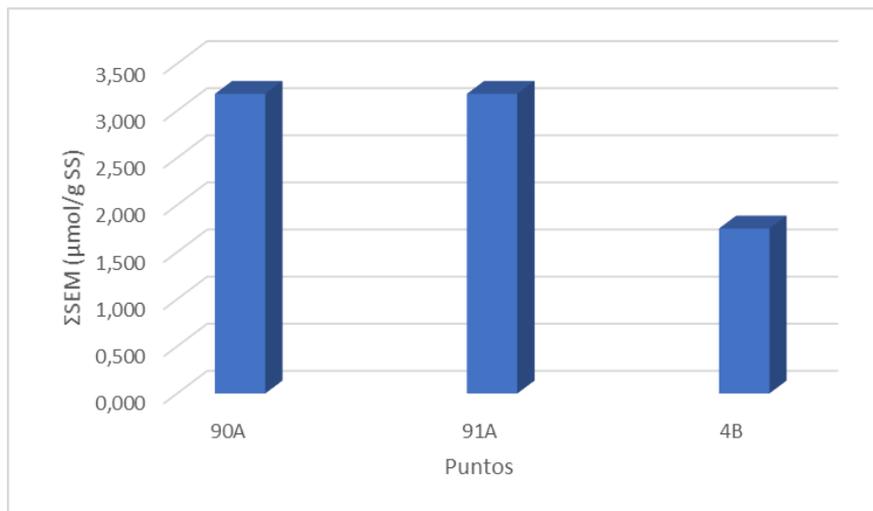


Figura 3.2 Concentración de ΣSEM en los puntos de muestreo

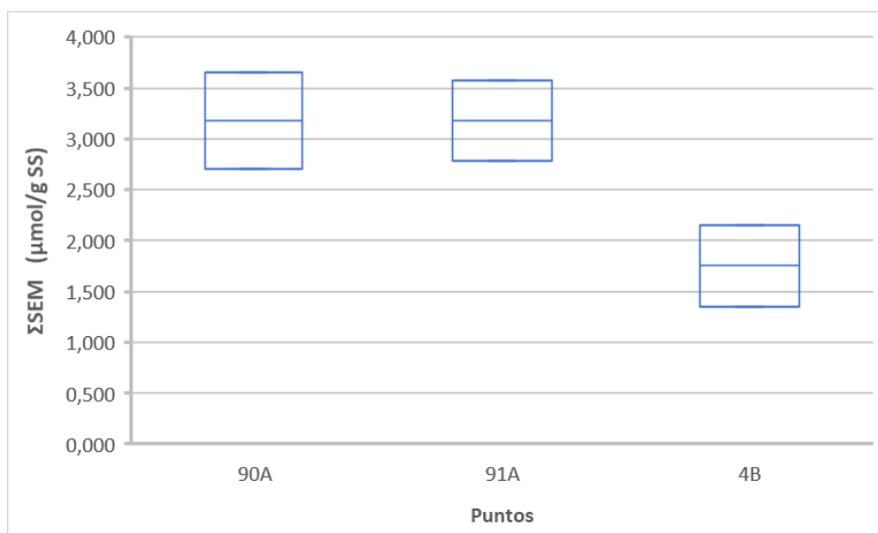


Figura 3.3 Distribución de ΣSEM en los puntos de muestreo

3.4.1 Cadmio.

La concentración de Cd ($\mu\text{mol/g SS}$) en los puntos de muestreo a diferentes profundidades se la puede observar en el gráfico 3.4. Los valores de Cd fueron más elevados en los puntos 90A y 91A.

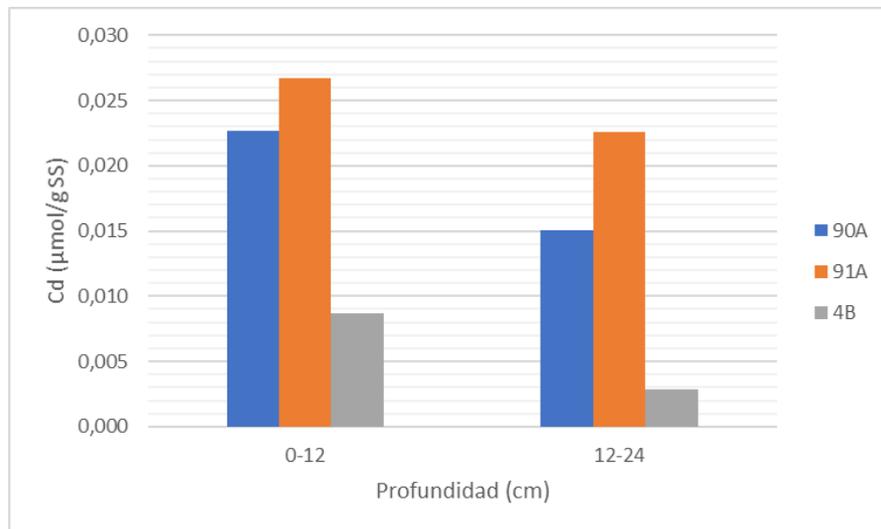


Figura 3.4 Concentración de Cd en diferentes profundidades

3.4.2 Níquel.

La concentración de Ni ($\mu\text{mol/g SS}$) en los puntos de muestreo a diferentes profundidades se la puede observar en la gráfica 3.5. Se observa que la concentración de Ni en superficie en el punto 4B es ligeramente mayor al punto 90A. Mientras que el punto 91A continúa teniendo la mayor concentración tanto de Cd como Ni

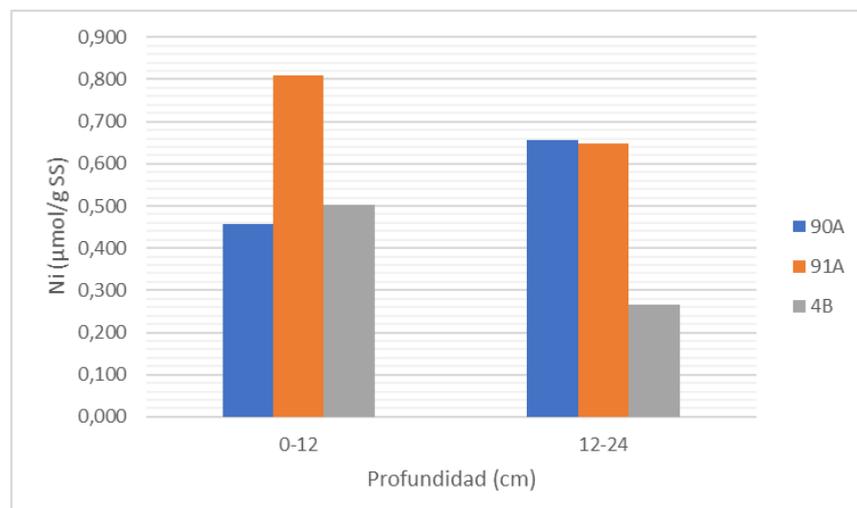


Figura 3.5 Concentración de Ni en diferentes profundidades

3.4.3 Cobre.

La concentración de Cu ($\mu\text{mol/g SS}$) en los puntos de muestreo a diferentes profundidades se la puede observar en la gráfica 3.6, En este caso el punto 91A en el sedimento más profundo tiene concentraciones de Cu que se encuentran entre los puntos 90A y 4B. También se aprecia que las cantidades de Cu son menores en el punto 4B

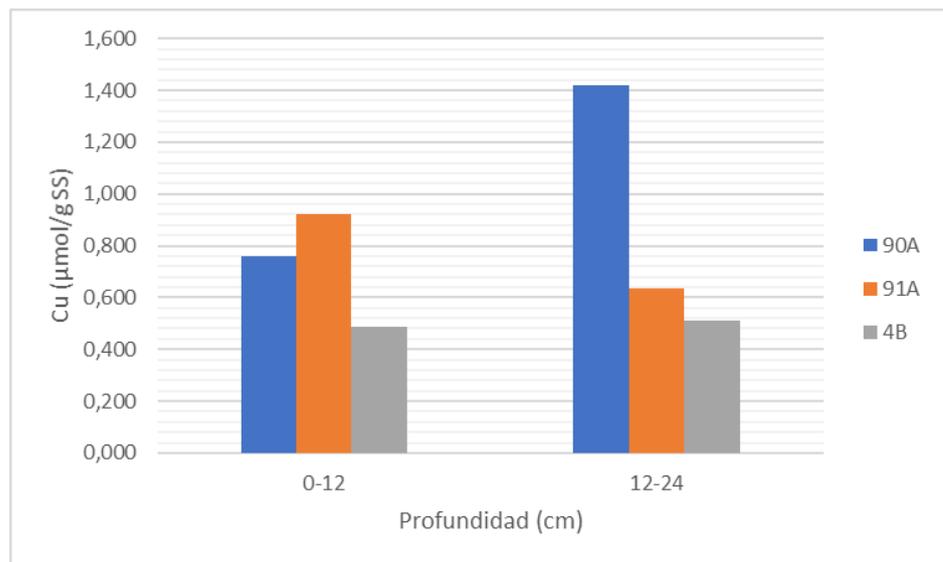


Figura 3.6 Concentración de Cu en diferentes profundidades

3.4.4 Plomo.

La concentración de Pb ($\mu\text{mol/g SS}$) en los puntos de muestreo a diferentes profundidades se la puede observar en la gráfica 3.7, determinando que en ambas profundidades el punto 4B fue el que poseía la menor cantidad de Pb.

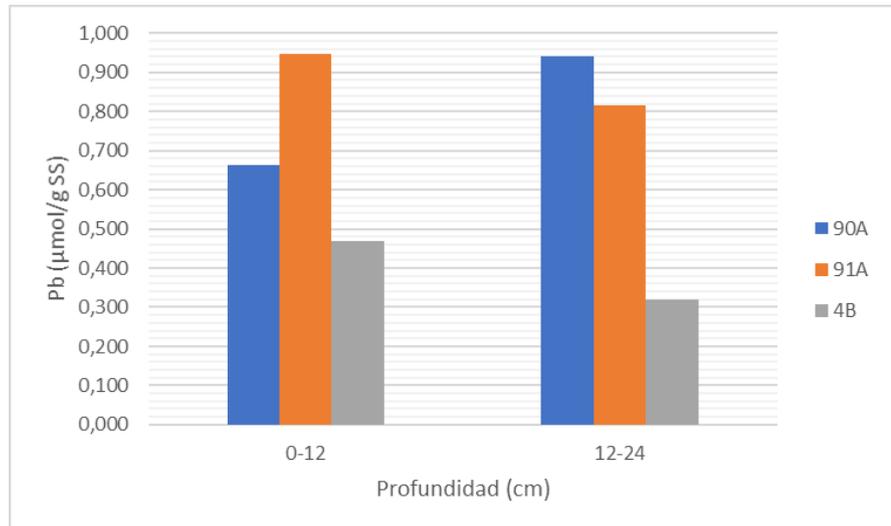


Figura 3.7 Concentración de Pb en diferentes profundidades

3.4.5 Zinc.

La concentración de Zn ($\mu\text{mol/g SS}$) en los puntos de muestreo a diferentes profundidades se la puede observar en la gráfica 3.8. Donde los puntos 90A y 91A poseen mayor concentración de Zn que 4B.

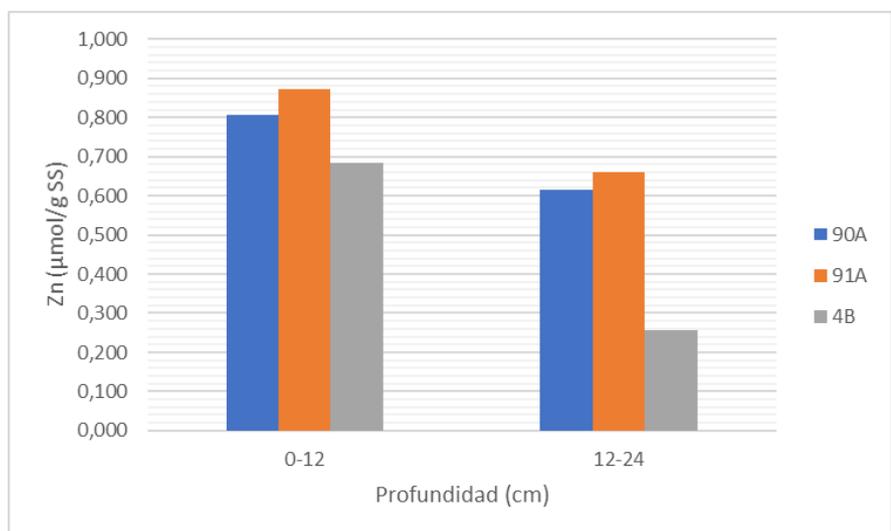


Figura 3.8 Concentración de Zn en diferentes profundidades

3.5 AVS y ΣSEM

Mediante el procedimiento antes mencionado, se obtuvieron valores de AVS y metales presentes (en unidades de $\mu\text{mol/g}$ sedimento seco) en cada una de las muestras, trabajando por duplicado en el laboratorio.

Tabla 3.4 Concentración de metales pesados, ΣSEM y AVS

Punto	Profundidad (cm)	Cd	Ni	Cu	Pb	Zn	ΣSEM ($\mu\text{mol/g SS}$)	AVS ($\mu\text{mol/g SS}$)
90A	0-12	0,023	0,460	0,749	0,667	0,711	2,609	10,306
		0,023	0,456	0,771	0,657	0,901	2,808	11,988
90A	12-24	0,016	0,658	1,387	0,927	0,607	3,595	7,520
		0,014	0,654	1,456	0,957	0,625	3,707	5,549
91A	0-12	0,027	0,810	0,958	0,948	0,842	3,585	21,412
		0,026	0,809	0,891	0,944	0,900	3,572	23,451
91A	12-24	0,022	0,640	0,666	0,805	0,666	2,799	6,044
		0,024	0,656	0,607	0,823	0,653	2,763	4,819
4B	0-12	0,009	0,512	0,412	0,473	0,686	2,092	54,916
		0,009	0,493	0,558	0,464	0,679	2,203	48,007
4B	12-24	0,003	0,264	0,593	0,302	0,230	1,391	0,928
		0,003	0,268	0,427	0,338	0,282	1,318	0,558

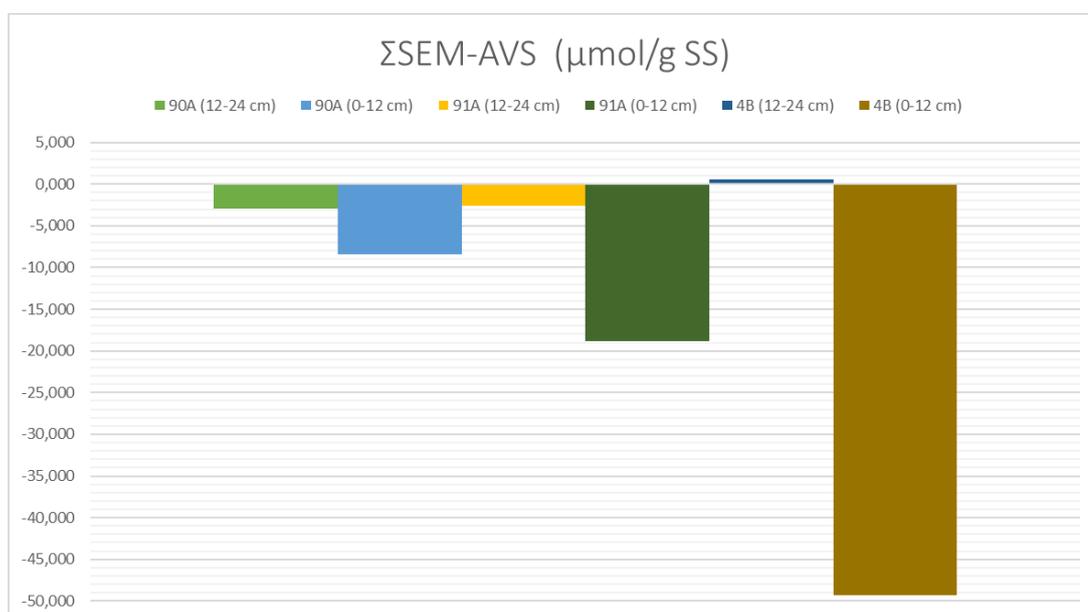


Figura 3.9 Comparación entre ΣSEM-AVS y los puntos de muestreo

Se pudo observar en la tabla 3.4 que la muestra de sedimento tomada en el punto 4B a una profundidad entre 12 y 24 cm, fue la única que presentaba valores mayores de Σ SEM respecto a los valores de AVS. En consecuencia, la relación Σ SEM-AVS tuvo valores positivos tal como se muestra en la figura 3.9, por lo que fue necesario utilizar el modelo matemático que relaciona Σ SEM-AVS con la fracción de carbono orgánico (f_{oc}) para determinar la biodisponibilidad de metales en dicho punto.

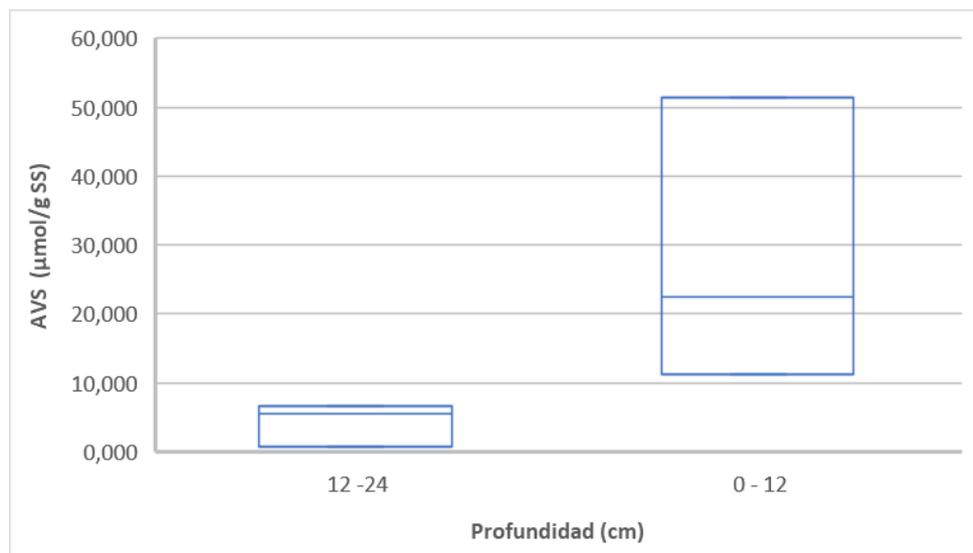


Figura 3.10 Concentración de AVS a diferentes profundidades

Se realizó una relación entre las concentraciones de AVS de todos los puntos con sus respectivas profundidades, encontrando que presentaban variaciones, tal como se muestra en el gráfico 3.10; se observó que a mayor profundidad las concentraciones de AVS eran menores con respecto a las concentraciones de menor profundidad.

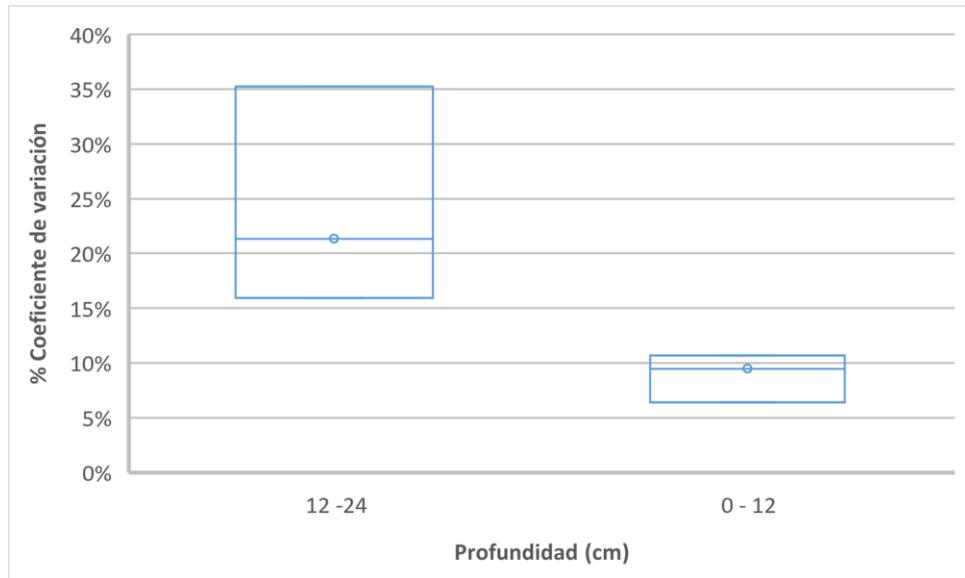


Figura 3.11 Coeficiente de variación de AVS a diferentes profundidades

Mediante el Gráfico 3.11 se determinó que existe diferencia significativa teniendo $P < 0.05$. por lo que se pudo observar que el coeficiente de variación era mayor, cuánto mayor era la profundidad. Esto se debió a que a esas profundidades se presentaban menores concentraciones de AVS y el método se hacía poco detectable y cuantificable. Lo que no sucede a menos profundidades, ya que fue en donde más concentraciones de AVS se presentó.

3.6 Biodisponibilidad de metales pesados en sedimentos mediante la técnica de determinación de AVS

Tabla 3.5 Biodisponibilidad de metales pesados en los puntos de muestreo.

Puntos	Profundidad (cm)	Σ SEM - AVS	Toxicidad	$\frac{\Sigma$ SEM - AVS f_{oc}	Toxicidad con f_{oc}
90A	12-24	-3,926	Biodisponibilidad Limitada	-132,410	Biodisponibilidad Limitada
		-1,842	Biodisponibilidad Limitada	-62,122	Biodisponibilidad Limitada
90A	0-12	-7,697	Biodisponibilidad Limitada	-329,811	Biodisponibilidad Limitada
		-9,181	Biodisponibilidad Limitada	-393,387	Biodisponibilidad Limitada
91A	12-24	-3,245	Biodisponibilidad Limitada	-97,164	Biodisponibilidad Limitada
		-2,056	Biodisponibilidad Limitada	-61,566	Biodisponibilidad Limitada
91A	0-12	-17,826	Biodisponibilidad Limitada	-473,915	Biodisponibilidad Limitada
		-19,879	Biodisponibilidad Limitada	-528,496	Biodisponibilidad Limitada
4B	12-24	0,463	Peligro Potencial (Analizar f_{oc})	52,234	Biodisponibilidad Limitada
		0,760	Peligro Potencial (Analizar f_{oc})	85,754	Biodisponibilidad Limitada
4B	0-12	-52,824	Biodisponibilidad Limitada	-2696,401	Biodisponibilidad Limitada
		-45,804	Biodisponibilidad Limitada	-2338,052	Biodisponibilidad Limitada

En la presente tabla se pudo observar que la biodisponibilidad de metales pesados en es limitada en todos los puntos, a excepción del punto 4B con profundidad de 12-24 cm, para lo cual se tomó en cuenta la materia orgánica, dándonos como resultado una biodisponibilidad limitada también.

3.7 Relación de toxicidad en sedimentos por la relación AVS-SEM y por método con bioindicadores (*Artemia salina*)

Como se presentó anteriormente que los puntos de mayor profundidad presentaban menor concentración de AVS y mayor su coeficiente de variación, se trabajó el análisis de toxicidad con los valores correspondientes a los puntos superficiales, es decir a una profundidad de 0-12 cm.

Utilizando el software estadístico "STATISTICA", se realizó un gráfico que relacionó los valores obtenidos en la relación Σ SEM-AVS con el porcentaje de nacimiento de *A. salina* a las 18h (gráfico 3.12) y 24h (gráfico 3.13) ya que son las horas donde las *A. salina* eclosionan en mayor cantidad.

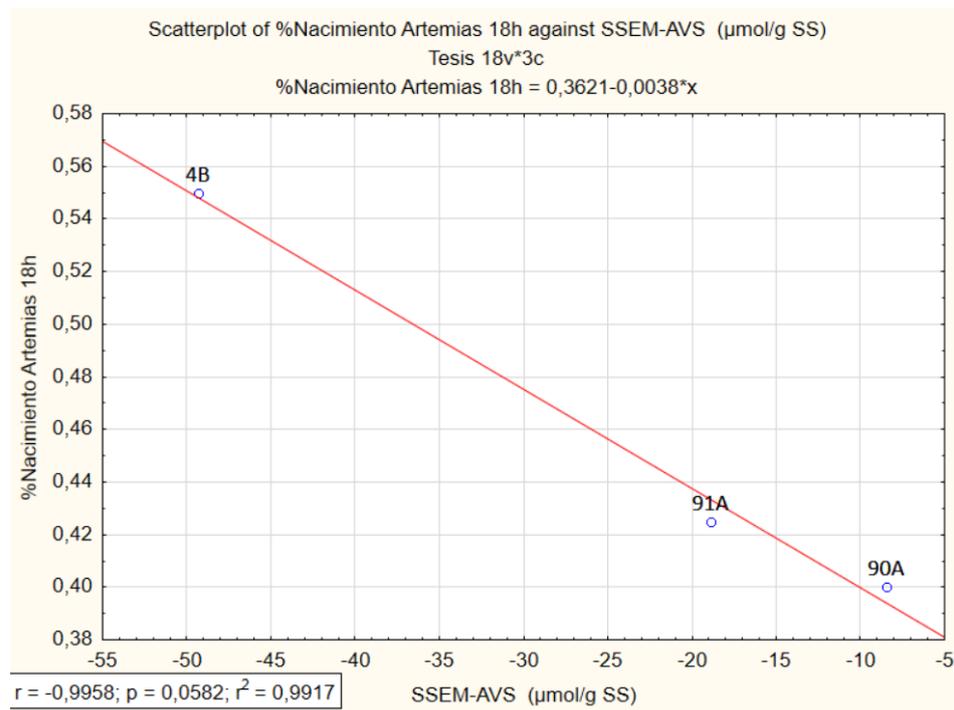


Figura 3.12 Relación de SSEM-AVS y el porcentaje de eclosión de *A. salinas* en 18 h

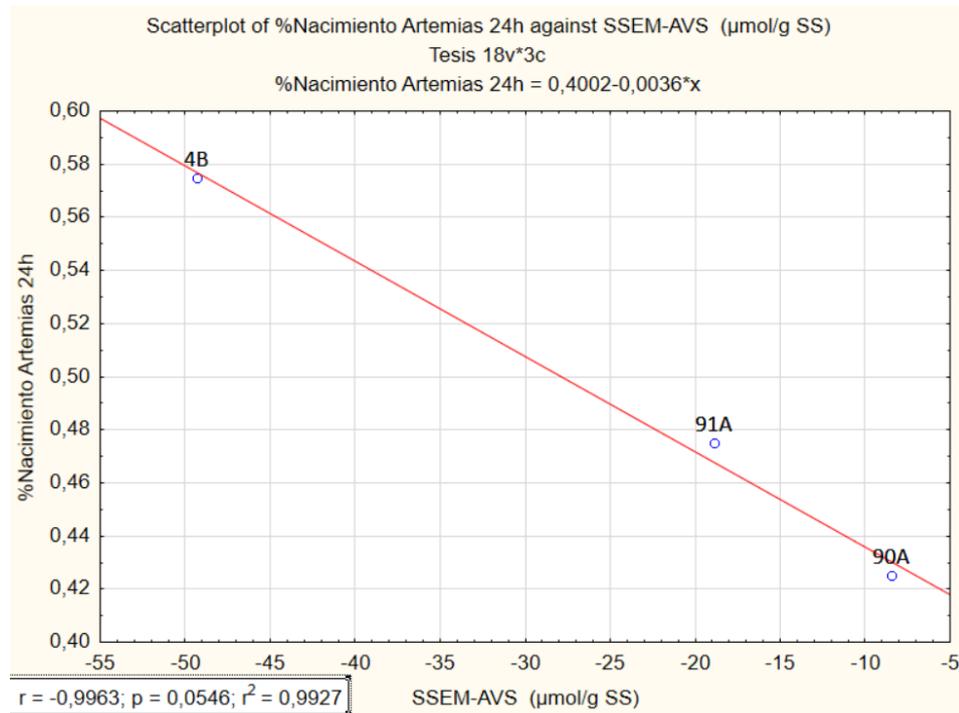


Figura 3.13 Relación entre SSEM-AVS y el porcentaje de eclosión de *A. salinas* en 24 h

En el gráfico 3.14, se observa el porcentaje de eclosión de las *A. salinas* a distintas profundidades, donde se aprecia que en 24 horas hubo un mayor porcentaje de *A. salinas* nacidas en las muestras de sedimento superficial (0-12 cm).

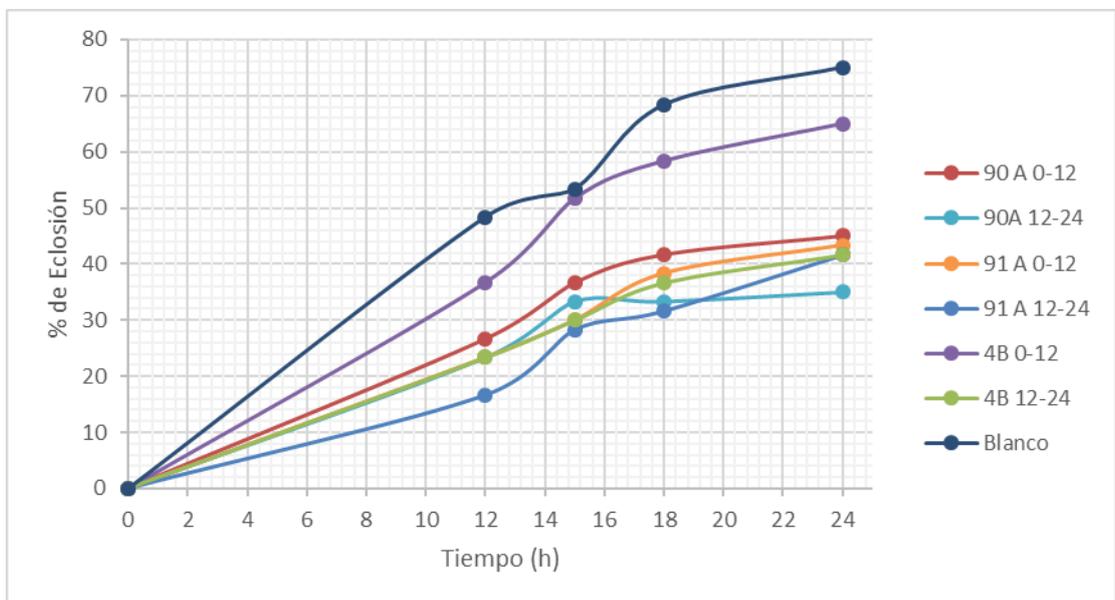


Figura 3.14 Porcentaje de eclosión de *A. salinas* en diferentes horas

3.8 Relación Σ SEM y Materia orgánica

A partir de los resultados obtenidos, fue posible realizar la comparación entre Σ SEM y Materia orgánica, datos que fueron observados en la figura 3.15, presentando el comportamiento establecido por (Simpson *et al.*, 2013).

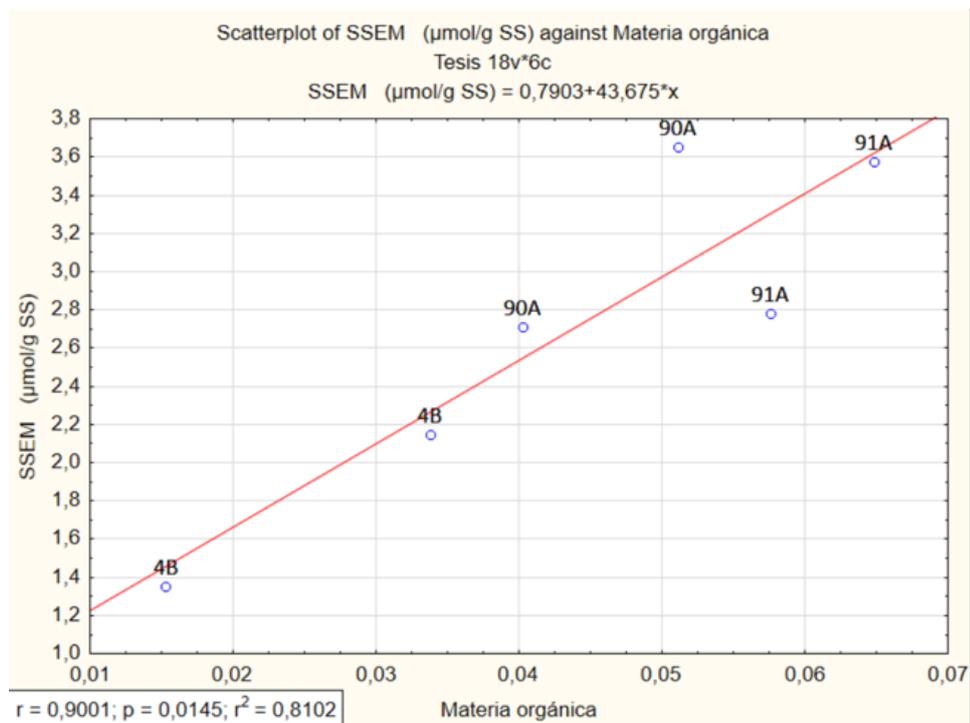


Figura 3.15 Relación de la concentración de SSEM y el porcentaje de materia orgánica

Se observa en el gráfico 3.15, que el sedimento al tener mayor cantidad de materia orgánica, las concentraciones de Σ SEM será mayor, ya que los metales se encuentran también fuertemente unidos a ella.

CAPÍTULO 4

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos permitieron determinar la toxicidad potencial, causada por metales pesados en 3 puntos del Estero Salado. Se obtuvo la biodisponibilidad de dichos metales a partir de la concentración de sulfuros y metales extraídos en muestras de sedimento provenientes de los puntos muestreados.

Los análisis de calidad del agua y sedimento durante el muestreo mostraron que los puntos 90A y 4B tienen menor concentración de oxígeno disuelto. Además, se obtuvo el porcentaje de humedad, materia orgánica y carbono orgánico. Siendo el punto 91A quién tiene mayor porcentaje de humedad, materia orgánica y carbono orgánico con relación a los puntos 90A y 4B.

A partir de los datos obtenidos se pudo determinar que la concentración de metales extraídos se relaciona directamente con la materia orgánica y el carbono orgánico. Teniendo así que, a mayor concentración de metales extraídos, el porcentaje de materia orgánica y carbono orgánico también será mayor. Lo cual se evidencia en el punto 91A quien tiene mayor concentración de metales extraídos y mayor cantidad de materia orgánica y carbono orgánico.

Se implemento el método para la determinación de sulfuros volátiles ácidos realizando variaciones en la técnica APHA 4500-S²⁻ J. Determinando la concentración de sulfuros a varias profundidades del sedimento, siendo el sedimento superficial el que contiene mayor concentración AVS. Se presentaron coeficientes de variación menores al 15%, en las réplicas de 0-12 cm de profundidad y coeficientes de variación entre 16 y 35% en las réplicas de una mayor profundidad a 12 cm, obteniendo una variabilidad notoria.

La mayor concentración de AVS se encontró en el punto 4B teniendo valores de hasta 54 $\mu\text{mol/g}$ SS, mientras que en los puntos 90A y 91A se obtuvieron concentraciones de hasta 23 $\mu\text{mol/g}$ SS. De forma análoga las concentraciones de metales extraídos obtenidas mostraron que en los puntos 90A y 91A dichas concentraciones son mayores con respecto a la encontrada en el punto 4B.

A partir de la relación SEM-AVS se estima que existe una biodisponibilidad limitada de metales pesados en los puntos 90A, 91A y 4B del Estero salado. Debido a que la concentración de sulfuros fue mayor que la sumatoria de los metales extraídos. Aun así, es posible identificar los puntos que tienen una mayor biodisponibilidad.

Considerando para el análisis únicamente el sedimento superficial (0-12cm), se estimó a partir de la relación SEM-AVS que el punto 4B presenta una menor biodisponibilidad de metales con respecto a los puntos 90A y 91A. Ya que tiene valores más alejados del umbral en el que se considera que existe un peligro potencial.

Se utilizaron bioindicadores que pudieran validar los resultados obtenidos en la relación SEM-AVS, para lo cual se usaron *Artemias salinas*. Determinando el porcentaje de eclosión de las *A. salinas* en cada uno de los puntos se obtuvo como resultado que la mayor cantidad de *A. salinas* eclosionaron en el punto 4B.

Se consideró la fracción de materia orgánica para resultados en los que la relación SEM-AVS >0 , determinando que no existe peligro potencial en los sitios estudiados, lo cual fue evidenciado por la observación de peces y el ensayo con *A. salinas*.

4.2 RECOMENDACIONES

Durante el muestreo es recomendable determinar el potencial de oxidoreducción en varias profundidades del sedimento, así como utilizar núcleos de diámetro mayor a 0.5 cm para retener mayor cantidad de muestra.

Realizar varios muestreos en el mismo punto, utilizando más de un núcleo para determinar la variación de AVS en la misma zona.

Se recomienda realizar el análisis de AVS en distintas épocas del año y en varios puntos del Estero Salado para tener registros y llevar un control sobre la variación de la biodisponibilidad de metales pesados.

Utilizar mayor cantidad de muestras para determinar la concentración de AVS en sedimento profundo, debido a las bajas concentraciones de AVS en profundidades mayores a 12cm.

Para la determinación de sulfuros se recomienda usar otros métodos tales como el electrodo selectivo, para evitar la manipulación de la muestra al momento de realizar las mediciones con el espectrofotómetro.

Es importante conocer la cantidad de metal total presente en el sedimento, por lo que se recomienda determinarla para realizar comparaciones junto con la concentración de los metales extraídos.

Es recomendable utilizar como estándar el sulfuro de sodio (Na_2S), con el fin de conocer con exactitud el porcentaje de recuperación del sistema y verificar que las condiciones que se establecieron en este trabajo funcionan con un estándar.

BIBLIOGRAFÍA

- Allen, H. E., Fu, G., & Deng, B. (1992). Analysis of acid-volatile sulfide and simultaneously extracted metals for the estimation of potential toxicity in aquatic sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 12, 1441–1453.
- Atkinson, C. A., Jolley, D. F., & Simpson, S. L. (2007). Effect of overlying water pH, dissolved oxygen, salinity and sediment disturbances on metal release and sequestration from metal contaminated marine sediments, 69, 1428–1437. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.04.068>
- Berry, W. J., Hansen, D. J., Mahoney, J. D., Robson, D. L., Di Toro, D. M., Shipley, B. P., ... Boothman, W. S. (1996). Predicting the toxicity of metal-spiked laboratory sediments using acid volatile sulfates and interstitial water normalisations. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15(12), 2067–2079.
- Blume, K. K., Macedo, J. C., Meneguzzi, A., Silva, L., Quevedo, D., & Rodrigues, M. (2010). Water quality assessment of the Sinos River, Southern Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 70(4), 1185–1193. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842010000600008>
- Casanova, F. E. C. (2014). Efecto De La Contaminación Por Metales Pesados En Los Ecosistemas Costeros Del Sureste De México. *Kuxulkab'*, 19(37).
- Di Toro, D. M., Mahony, J. D., Hansen, D. J., Scott, K. J., Carlson, A. R., & Ankleyl, G. T. (1992). Acid Volatile Sulfide Predicts the Acute Toxicity of Cadmium and Nickel in Sediments, 96–101.
- Morse, J. W., & Rickard, D. (2004). Chemical Dynamics of Sedimentary Acid Volatile Sulfide. *Environmental Science and Technology*, 131–136.

- Nelson Zambrano. (SF). Listado de industrias con descargas al Estero Salado. 02/08/2018, de Ministerio del Ambiente Ecuador Sitio web: <http://www.ambiente.gob.ec/listado-de-industrias-con-descargas-al-estero-salado/>
- Eggleton, J., & Thomas, K. V. (2004). A review of factors affecting the release and bioavailability of contaminants during sediment disturbance events. *Environment International*, 30(7), 973–980. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2004.03.001>
- Fagnani, E., Guimaraes, J. R., Mozeto, A. A., & Fadini, P. S. (2011). Acid Volatile Sulfides and Simultaneously Extracted Metals in the Assessment of Freshwater Sediments. *Quimica Nova*, 34(9), 1618–1628. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000900022>
- Fang, T., Li, X., & Zhang, G. (2005). Acid volatile sulfide and simultaneously extracted metals in the sediment cores of the Pearl River Estuary, South China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 61(3), 420–431. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.10.004>
- Gagnon, C., Mucci, A., & Pelletier, É. (1995). Anomalous accumulation of acid-volatile sulphides (AVS) in a coastal marine sediment, Saguenay Fjord, Canada. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 59(13), 2663–2675. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(95\)00163-T](https://doi.org/10.1016/0016-7037(95)00163-T)
- González, R. P. M., Coronado, G., Acosta, N., Medina González, H., García Coronado, J., & Núñez Acosta, D. (2007). Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias El método del hidrómetro, 16(3), 19–24.
- Hammerschmidt, C. R., & Burton, G. A. (2010). Measurements of acid volatile sulfide and simultaneously extracted metals are irreproducible among laboratories. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29(7), 1453–1456. <https://doi.org/10.1002/etc.173>

- Hansen, D. J., DiToro, D. M., Berry, W. J., Boothman, W. S., Burgess, R. M., T., A. G., ... Zarba, C. S. (2005). Procedures for the Derivation of Equilibrium Partitioning Sediment Benchmarks (ESBs) for the Protection of Benthic Organisms : Metal Mixtures (Cadmium , Copper , Lead , Nickel , Silver, and Zinc). EPA/600/R02/011. Environmental Protection, 121.
- Hernández-Crespo, C. (2013). Evaluación del contenido de Sulfuros Ácidos Volátiles y Metales Extraídos Simultáneamente en los sedimentos de L'Albufera de Valencia. Modelación matemática de procesos biogeoquímicos en el perfil del sedimento. <https://doi.org/10.4995/Thesis/10251/34787>
- Hinkey, L. M., & Zaidi, B. R. (2007). Differences in SEM-AVS and ERM-ERL predictions of sediment impacts from metals in two US Virgin Islands marinas. *Marine Pollution Bulletin*, 54(2), 180–185. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2006.09.009>
- Hovell, I., Lacerda, R. F., Rutledge Medeiros, A. L., & Rajagopal, K. (2007). the Use of Edta in Alkaline Zinc Acetate Solutions As a Trapping Mixture for Hydrogen Sulphide. *PDPetro*, 1–8.
- Huerta-Diaz, M. A., Tessier, A., & Carignan, R. (1998). Geochemistry of trace metals associated with reduced sulfur in freshwater sediments. *Applied Geochemistry*, 13(2), 213–233. [https://doi.org/10.1016/S0883-2927\(97\)00060-7](https://doi.org/10.1016/S0883-2927(97)00060-7)
- Lasorsa, B., & Casas, A. (1996). A comparison of sample handling and analytical methods for determination of acid volatile sulfides in sediment. *Marine Chemistry*, 52(3–4), 211–220. [https://doi.org/10.1016/0304-4203\(95\)00074-7](https://doi.org/10.1016/0304-4203(95)00074-7)
- Luoma, S. N., & Carter, J. L. (1993). Understanding the toxicity of contaminants in sediments: Beyond the bioassay-based paradigm. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 12(5), 793–796. <https://doi.org/10.1002/etc.5620120501>

- Pernía Santos, B. M., Mero, M., Cornejo, X., Ramírez-Prado, N., Ramírez, L., Bravo, K., ... Zambrano, J. (2018). Determinación de cadmio y plomo en agua, sedimento y organismos bioindicadores en el Estero Salado, Ecuador. *Enfoque UTE*, 9(2), 89–105. <https://doi.org/10.29019/enfoqueute.v9n2.246>
- Queiroz, H. M., Nóbrega, G. N., Otero, X. L., & Ferreira, T. O. (2018). Are acid volatile sulfides (AVS) important trace metals sinks in semi-arid mangroves? *Marine Pollution Bulletin*, 126(September 2017), 318–322. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.11.020>
- Rickard, D., & Morse, J. W. (2005). Acid volatile sulfide (AVS). *Marine Chemistry* (Vol. 97). <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2005.08.004>
- Sánchez Bascones, M. I. (2003). Determinación de metales pesados en suelos de Mediana del Campo (Valladolid): contenidos extraíbles , niveles fondo y de referencia, 275.
- Simpson, S. L., Batley, G. E., & Chariton, A. A. (2013). Revision of the ANZECC / ARMCANZ sediment quality guidelines, (CSIRO Land and Water Science Report 08/07). Retrieved from file:///R:/LITERATURE/Maree/Simpson 2014GV Revision of SQGs Final Report.pdf
- Simpson, S. L., Ward, D., Strom, D., & Jolley, D. F. (2012). Oxidation of acid-volatile sulfide in surface sediments increases the release and toxicity of copper to the benthic amphipod *Melita plumulosa*. *Chemosphere*, 88(8), 953–961. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.03.026>
- Van Griethuysen, C., Gillissen, F., & Koelmans, A. A. (2002). Measuring acid volatile sulphide in floodplain lake sediments: Effect of reaction time, sample size and aeration. *Chemosphere*, 47(4), 395–400. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(01\)00314-9](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(01)00314-9)

Van Rijn, L. (1993). Principles of Sediment Transport in Rivers, Estuaries and Coastal Seas. Principles of Sediment Transport in Rivers , Estuaries and Coastal Seas, 1–17. <https://doi.org/10.1002/9781444308785>

Veses, O. (2010). Análisis de Biodisponibilidad de Sustancias Peligrosas en Sedimentos. Universidad de Zaragoza.

Vullo, D. (2003). Microorganismos y metales pesados: una interacción en beneficio del medio ambiente . *Química Viva*, 2 (3), 93-104.

WCA Environment. (2014). BIOAVAILABILITY-BASED ENVIRONMENTAL QUALITY STANDARDS FOR METALS September 2014, (September), 1–73.

