

## **Información Importante**

La Universidad Santo Tomás, informa que el(los) autor(es) ha(n) autorizado a usuarios internos y externos de la institución a consultar el contenido de este documento a través del Catálogo en línea de la Biblioteca y el Repositorio Institucional en la página Web de la Biblioteca, así como en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

Se permite la consulta a los usuarios interesados en el contenido de este documento, para todos los usos que tengan **finalidad académica**, nunca para usos comerciales, siempre y cuando mediante la correspondiente cita bibliográfica se le dé crédito al trabajo de grado y a su autor.

De conformidad con lo establecido en el Artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, la Universidad Santo Tomás informa que “los derechos morales sobre documento son propiedad de los autores, los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables.”

**Bibliotecas Bucaramanga  
Universidad Santo Tomás**

**EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE PLOMO Y CADMIO EN PECES DEL RÍO  
LEBRIJA EN EL CORREGIMIENTO PROVINCIA, MUNICIPIO DE SABANA DE  
TORRES EMPLEANDO ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA**

**LUZ MARINA SILVA VARGAS  
BELKIS CAROLINA RUBIO CAÑAS**

**UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS  
DIVISION DE INGENIERIAS Y ARQUITECTURA  
FACULTAD QUIMICA AMBIENTAL  
BUCARAMANGA  
2015**

**EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE PLOMO Y CADMIO EN PECES DEL RÍO  
LEBRIJA EN EL CORREGIMIENTO PROVINCIA, MUNICIPIO DE SABANA DE  
TORRES EMPLEANDO ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA**

**LUZ MARINA SILVA VARGAS  
BELKIS CAROLINA RUBIO CAÑAS**

**Plan de Trabajo de grado para optar el título de Químico Ambiental**

**Director del Proyecto  
CIRO EDUARDO ROZO CORREA  
Químico. *Msc***

**Codirector del Proyecto  
CESAR AUGUSTO BERNAL  
Químico. *Msc***

**UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS  
DIVISION DE INGENIERIAS Y ARQUITECTURA  
FACULTAD QUÍMICA AMBIENTAL  
BUCARAMANGA  
2015**

## DEDICATORIA

*A Dios dueño y señor de toda las cosas y fuente primaria de inspiración y sabiduría.*

*A mi esposo Manuel Guillermo Quijano Ortega, a mis hijos Andrés Felipe y Ana Gabriela por su confianza, apoyo permanente y tantas noches de sacrificios.*

*A la memoria de mis padres José y Ana y mis hermanos Gerardo, Jesús y Miguel que sé que desde el cielo me iluminaron.*

*A todos los familiares y amigos que me han apoyado y han creído en mí.*

*Luz Marina*

*A Dios, por permitirme seguir adelante con mis proyectos.*

*A mi madre Marta Cañas por el gran amor, cariño y por su apoyo incondicional, que desde siempre me han brindado, y me siguen impulsando para ser mejor cada día.*

*A mi familia, por alentarme a cumplir con mis metas y apoyarme en cada paso que doy.*

*A mi hija Ana Catalina que es lo más grande que me ha dado la vida y que ha sido el motor que me ha impulsado para la culminación de este proyecto.*

*Todo este trabajo ha sido posible gracias a ellos.*

*Belkis Carolina*

## **AGRADECIMIENTOS**

Al profesor Ciro Eduardo Rozo Correa por su valiosa guía en el transcurso de este trabajo, por haber creído en nuestras capacidades y haber apoyado el proyecto.

Al equipo de apoyo del laboratorio de la Universidad Santo Tomas de Aquino.

A Cesar Bernal por habernos apoyado siempre en las dificultades y su colaboración.

A la Universidad Santo Tomas de Aquino y al cuerpo de docentes por todo el aporte en el transcurso de la carrera.

Y a todos los que hicieron posible este sueño

## CONTENIDO

<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>15</b>
<b>1. EVALUACION DEL CONTENIDO DE PLOMO Y CADMIO EN PECES DEL RIO LEBRIJA EN EL CORREGIMIENTO PROVINCIA, MUNICIPIO DE SABANA DE TORRES EMPLEANDO ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA</b>	<b>16</b>
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
1.2 JUSTIFICACIÓN	18
1.3 OBJETIVOS	19
1.3.1 OBJETIVO GENERAL	19
1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
<b>2. MARCO REFERENCIAL</b>	<b>20</b>
2.1 MARCO TEÓRICO	20
2.1.1 Área de estudio	20
2.1.2 Especies de peces objetivos del estudio	22
2.1.3 Interacción entre metales y peces	22
2.1.4 Especiación del metal en el ambiente	22
2.1.5 Interacción metal-organismo	23
2.1.6 Efectos biológicos resultantes de la interacción metal - organismo	24
2.1.7 Normatividad Colombiana	24
2.1.9 Espectroscopia de Absorción Atómica	25
2.1.10 Determinación de metales pesados en peces	25
2.1.11 Validación de técnicas analíticas	25
2.2 MARCO DE ANTECEDENTES	27
<b>3. DISEÑO METODOLÓGICO</b>	<b>30</b>
3.1 MÉTODO ANALÍTICO	30
3.2 VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO	31
3.3 TOMA Y RECOLECCIÓN DE MUESTRAS	34
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSION</b>	<b>35</b>
4.1 CONFIRMACIÓN DE MÉTODO EN ESPECIES BOCACHICO Y BAGRE	35
4.2 VALIDACIÓN DEL MÉTODO DETERMINACIÓN DE PLOMO Y CADMIO EN BOCACHICO	36
4.2.1 Límite de detección y cuantificación	36
4.2.2 Sensibilidad del método	37
4.2.3 Intervalo lineal	39
4.2.4 Precisión	40
4.2.5 Exactitud	41
4.3 MUESTREO Y RECOLECCIÓN DE MUESTRAS	42
4.4 EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE PLOMO Y CADMIO EN BOCACHICO	42
4.5 COMPARACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES OBTENIDAS CON LA NORMATIVIDAD	44
4.5.1 Normatividad colombiana	44

4.5.2	Normatividad internacional	44
5.	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>45</b>
6.	<b>DIVULGACIÓN DE LOS RESULTADOS</b>	<b>46</b>
7.	<b>PROPUESTAS PARA TRABAJOS FUTUROS</b>	<b>47</b>
	<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>48</b>
	<b>ANEXOS</b>	<b>52</b>

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Límites máximos en mg/kg de Cd y Pb en pescado a nivel nacional.	24
Tabla 2. Límites máximos en mg/kg de cd y pb en pescado a nivel internacional.	24
Tabla 3 Parámetros de operación del equipo de absorción por llama.	30
Tabla 4. Figuras de mérito y criterios estadísticos para la validación.	31
Tabla 5. Resultados contrastes de significación criterio F y t student.	35
Tabla 6. Valores obtenidos de límites de detección y cuantificación.	36
Tabla 7. Comprobación de los límites de cuantificación de Cd y Pb.	37
Tabla 8. Diseño experimental empleado para la validación de pb en bocachico.	40
Tabla 9. Diseño experimental empleado para la validación de cd en bocachico.	41
Tabla 10. Coordenadas puntos de estratégicos de muestreo.	42
Tabla 11. Contenido de pb y cd en bocachico en época de lluvias.	42
Tabla 12. Contenido de pb y cd en bocachico en época de sequía.	43
Tabla 13. Resultados contrastes de significación criterio F y t student	54

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación geográfica Río Lebrija	20
Figura 2. Ubicación espacial corregimiento Provincia	21
Figura 3. Espectrofotómetro Thermo Scientific, modelo ICE 3000 series	30
Figura 4. Rectas de calibración obtenidas durante la validación Cd.	38
Figura 5. Rectas de calibración obtenidas durante la validación Pb.	38
Figura 6. Gráficos de residuos de plomo obtenidos durante la validación	39
Figura 7. Gráficos de residuos de plomo obtenidos durante la validación.	40
Figura 8. GPS Garmín Etrex Vista empleado para la toma de coordenadas.	52
Figura 9. Embalse Linderos, Bocas, Santander	52
Figura 10. Toma de muestras por parte de pescadores de la zona (conchal)	52
Figura 11. Pesaje de muestra (muestra empleada durante las fortificaciones).	53
Figura 12. Calcinación de las muestras en mufla.	53
Figura 13. Digestión ácida previa calcinación de muestra.	53

## LISTADO DE ANEXOS

ANEXO A. Toma recolección y tratamiento de muestras	52
ANEXO B. Resultados contrastes de significación criterio f y t student	54
ANEXO C. Curvas de calibración de plomo	55
ANEXO D. Curvas de calibración de cadmio	57

## LISTA DE ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

AA: Absorción atómica

As: Arsénico

Ca: Calcio

Cd: Cadmio

Cr: Cromo

Cu: Cobre

ESSA: Electrificadora de Santander S.A. E.S.P.

FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations

HCl: Ácido clorhídrico

Hg: Mercurio

HNO<sub>3</sub>: Ácido nítrico

Mg: Magnesio

Ni: Níquel

nm: nanómetros, unidades de longitud de onda.

NIST: National Institute of Standards and Technology

NTC: Norma Técnica Colombiana

OMS: Organización Mundial de la Salud

Pb: Plomo.

ppb: Partes por billón.

ppm: Partes por millón.

USFDA: The Food and Drug Administration of the United Nations

WHO: World Health Organization

Zn: Zinc

## GLOSARIO

*Antropogénico:* Efectos, procesos o materiales que son el resultado de actividades humanas, a diferencia de los que tienen causas naturales sin influencia humana.

*Biomagnificación:* Proceso de acumulación de una sustancia tóxica en organismos vivos. Ésta se presenta en bajas concentraciones en organismos al principio de la cadena trófica y en mayor proporción a medida que se asciende en dicha cadena.

*Biodegradación:* Descomposición natural y no contaminante de una sustancia o producto por la acción de agentes biológicos.

*Bufo arenarum:* Especie comúnmente llamado sapo grande.

*Redox:* reacción química en la que uno o más electrones se transfieren entre los reactivos, provocando un cambio en sus estados de oxidación.

*Ílofago:* peces que se alimentan del fango ingiriendo microorganismos producidos por la descomposición de la materia, o también se alimentan de los desperdicios, o heces, de otros animales.

## RESUMEN

Se determinó el contenido de cadmio (Cd) y plomo (Pb) en 30 muestras de bocachico colectadas durante temporada de lluvia y temporada de sequía. La determinación fue realizada empleando la técnica espectrofotometría de Absorción Atómica previa validación de la metodología empleada, todas las concentraciones son expresadas en peso húmedo.

La evaluación fue realizada con el propósito de verificar que los productos obtenidos sobre el Río Lebrija en los puntos el Conchal, Salamaga y Vanegas aguas arriba del corregimiento provincia, municipio de Sabana de Torres, cumplen los criterios establecidos en la normatividad nacional NTC 1322:2009 (0,1 mg Cd/Kg y 0,4 mg Pb/Kg) y normatividad internacional en el reglamento consolidado (CE) N° 1881/2006, de la Unión Europea (0,1 mg Cd/Kg y 0,3 mg Pb/Kg), así como el codex alimentarius 2002 (0,05 mg Cd/Kg y 0,1 mg Pb/Kg) y descartar la mortandad de peces por contaminación de metales pesados como cadmio y plomo.

Las concentraciones encontradas, en el músculo y piel de las muestras de bocachico, fueron menores a los límites de cuantificación (0,125 mg Pb/Kg y 0,035 mg Cd/Kg) obtenidos durante la validación. Los resultados demostraron que las muestras analizadas son aptas para el consumo humano de acuerdo a la normatividad ambiental nacional e internacional.

**PALABRAS CLAVE:** METALES PESADOS, CADMIO, PLOMO, BOCACHICO, BIOACUMULACIÓN, VALIDACIÓN.

## ABSTRACT

The content of cadmium (Cd) and lead (Pb) in 30 samples collected bocachico during rainy season and dry season is determined. The determination was performed using the technique of atomic absorption spectrophotometry after validation of the methodology used, all concentrations are expressed in wet weight.

The evaluation was conducted in order to verify that products obtained on the Lebrija River in points Conchal, Salamaga and Vanegas upstream of judges province, municipality of Sabana de Torres, meet the criteria laid down in national regulations NTC 1322: 2009 (0.1 mg Cd / kg and 0.4 mg Pb / kg) and international standards in the consolidated Regulation (EC) No. 1881/2006 of the European Union (0.1 mg Cd / kg and 0.3 mg Pb / Kg) and the Codex Alimentarius 2002 (0.05 mg Cd / kg and 0.1 mg Pb / kg) and discard mortality of fish contamination of heavy metals such as cadmium and lead.

The concentrations found in muscle and skin samples bocachico, they were below the limits of quantification (0.125 mg Pb / kg and 0.035 mg Cd / kg) obtained during validation. The results showed that the samples analyzed are fit for human consumption according to national and international environmental regulations.

**KEYWORDS:** Heavy metal, Cadmium, Lead, "Bocachico", Bioaccumulation, Validation.

## INTRODUCCIÓN

El aumento de la contaminación de las diferentes fuentes hídricas supone un grave problema ambiental, económico y social a nivel mundial, esto es notorio en los países en vías de desarrollo, en donde el tratamiento de las aguas residuales tanto industriales como domésticas tiene grandes rezagos tecnológicos y de infraestructura.

La cuenca del Río de Oro recibe una gran variedad de contaminantes de aguas residuales domésticas, residuales industriales, residuos agropecuarios e incluso animales en descomposición; desde su nacimiento hasta su desembocadura en la confluencia con el río Suratá para formar el río Lebrija; esta contaminación es causada por los municipios Piedecuesta, Floridablanca, Girón y Bucaramanga. A lo largo de los años la magnificación de la contaminación ha causado en repetidas ocasiones mortandad de peces sobre la ribera del río Lebrija, donde se ven afectados cientos de familias cuyo sustento diario y principal fuente proteica es obtenida gracias a la actividad de pesca.

Frente a esta problemática ambiental en el presente proyecto se evaluaron los niveles de plomo y cadmio en tejido muscular de peces de la especie “Bocachico” (*Prochilodus magdalenae*) muestreados en tres puntos (Conchal, Salamaga y Vanegas) sobre el río Lebrija en el corregimiento Provincia de Sabana de Torres, Santander – Colombia, en época de lluvias así como en época de sequía, empleando una metodología analítica validada en el Laboratorio de Química Ambiental de la Universidad Santo Tomás, basada en la técnica de absorción atómica, previa digestión de la muestra en medio ácido.

Los resultados obtenidos producto de la evaluación se compararon con los niveles reglamentarios de la normatividad nacional como de algunas internacional, encontrándose que los pescados analizados en su músculo y piel, se encuentra libre de contaminación que supere los niveles permisibles.

# **1. EVALUACION DEL CONTENIDO DE PLOMO Y CADMIO EN PECES DEL RIO LEBRIJA EN EL CORREGIMIENTO PROVINCIA, MUNICIPIO DE SABANA DE TORRES EMPLEANDO ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA**

## **1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La contaminación por metales pesados en el ambiente y en especial en alimentos de consumo humano como en peces, se ha convertido en preocupación mundial, debido a su toxicidad, bioacumulación y magnificación a través de la cadena alimenticia; entre los metales pesados considerados con mayor grado de toxicidad para la salud humana y otros organismos se encuentran el Plomo y el Cadmio; estudios realizados en el Sur de la India reportaron concentraciones de plomo y cadmio en especies acuáticas que exceden el límite máximo permitido establecido por la FAO, USFDA y European Commission for food standards<sup>1</sup>; en otra investigación llevada a cabo en peces de ríos venezolanos se hallaron concentraciones moderadas de plomo y cadmio, según los valores recomendados por la Organización Mundial de la Salud en alimentos, OMS.<sup>2</sup> Esta situación genera gran preocupación a nivel mundial, debido a que estos metales pesados son absorbidos fácilmente por los organismos y pueden resultar tóxicos para el ser humano incluso en bajas concentraciones.<sup>3</sup>

Es necesario tener presente que tanto el plomo como el cadmio son metales pesados que constituyen un riesgo serio para la salud humana, ya que su estabilidad química ante procesos de biodegradación, hacen que los seres vivos no sean capaces de metabolizarlos, generándose una bioacumulación y un efecto multiplicador en la concentración del contaminante en la cadena alimenticia, absorbiéndose eficazmente a través de las membranas biológicas dada su alta afinidad química por el grupo sulfhídrico de las proteínas.<sup>4</sup>

La ciencia médica, por su parte, ha demostrado que estos elementos tóxicos, causan graves alteraciones en la salud humana. Citando un ejemplo, el plomo causa anemia, retardando la maduración normal de los glóbulos rojos,<sup>5</sup> mientras que el cadmio causa alteraciones a nivel enzimático, renal, respiratorio y digestivo,<sup>6</sup> también ocasionan afectaciones considerables en la flora y fauna de los ecosistemas afectados.

En Colombia, la contaminación por metales pesados de peces ha sido estudiada en el río Magdalena, en ciénagas del sur de Bolívar, en áreas del Magdalena medio, en el río Cauca (Ciénaga Grande), San Jorge (Caimito, Sucre), Condoto (Chocó), sin embargo los estudios publicados en revistas indexadas sobre niveles de contaminación en plomo y cadmio han sido mínimos en el departamento de Santander.<sup>7</sup>

En repetidas ocasiones el periódico local “Vanguardia Liberal” ha reportado grave mortandad de peces sobre la cuenca del Río Lebrija, <sup>8,9,10,11</sup> en enero de 2015, se reportó la última mortandad masiva de peces sobre el río Lebrija en el corregimiento Provincia de Sabana de Torres, departamento de Santander; según las entrevistas realizadas por el periódico local a pescadores y autoridades ambientales del sector tal problemática se ha presentado por varios años, entre las especies halladas muertas en el río están “bocachico” y “bagre”, la contaminación del río Lebrija tiene preocupados a sus habitantes y a la Alcaldía de Sabana de Torres debido a que el principal recurso alimentario y sustento económico de más de 6.000 familias proviene de la actividad de la pesca según el director de la ONG Cabildo Verde;<sup>11</sup> cabe resaltar que al Río Lebrija son conducidas las descargas de las cabeceras municipales y de pequeños centros poblados, además de los vertimientos de las actividades agropecuarias. Se plantea la contaminación potencial del río Lebrija por metales pesados como el plomo a causa de procesos de fundición primaria y secundaria de metales, elaboración de loza vidriada, producción de pinturas, residuos de la industrias electrónicas y de computo, industria de vidrio, así como de los procesos de combustión de la gasolina y cadmio a causa de residuos de baterías descargables, fertilizantes, estabilizadores en plásticos y PVC, producción de pinturas, procesos de galvanización, procesos de aleaciones,<sup>12</sup> generando posible bioacumulación en peces, poniendo en riesgo la salud humana y el principal recurso económico de la población.

En el presente trabajo se propone evaluar el contenido de plomo y cadmio en “bocachico” (*Prochilodus magdalenae*) y “bagre” (*Pseudoplatystoma magdaleniatum*) muestreado en tres puntos específicos de pesca sobre el río Lebrija aledaños a la vereda Provincia.

Para llevar a cabo este estudio se implementara en el Laboratorio de Química Ambiental de la Universidad Santo Tomás, una metodología capaz de cuantificar plomo y cadmio en peces empleando Espectrofotometría de absorción atómica previa digestión.

## 1.2 JUSTIFICACIÓN

El presente estudio se encuentra focalizado en un tramo del río Lebrija, debido a las constantes emergencias ambientales en mortandad de peces, las cuales no cuentan con aclaración científica soportada en datos reales, no obstante la población del corregimiento Provincia, pescan aproximadamente 360 Kg semanales de estas especies, de las cuales un 30% es destinado para consumo local y el 70% restante es comercializado en la central de abastos de Bucaramanga.<sup>13</sup> De encontrarse contaminación en tejido muscular de pescado se puede estar frente a una problemática ambiental por biomagnificación.

Otro aporte importante del presente estudio, es la implementación de metodologías capaces de cuantificar de manera confiable plomo y cadmio en peces en el Laboratorio de Química Ambiental de la Universidad Santo Tomás y en posteriores estudios poder evaluar el contenido de estos metales en peces de diferentes cuencas hídricas de nuestro país.

Los resultados obtenidos a través de esta investigación permitirán esclarecer científicamente el problema ambiental y social generado por mortandad de peces y contribuirá con la gestión de políticas y/o estrategias de solución que permitan mejorar la situación de salud y ambiental de la población.

## 1.3 OBJETIVOS

### 1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el contenido de plomo y cadmio en las especies de peces “Bocachico” (*Prochilodus magdalenae*) y “Bagre” (*Pseudoplatystoma magdaleniatum*) provenientes de la ribera del Río Lebrija, en el corregimiento Provincia, ubicada en el municipio de Sabana de Torres, departamento de Santander, empleando espectrofotometría de absorción atómica.

### 1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Implementar y validar la metodología analítica para la determinación de Plomo y Cadmio en peces mediante Espectrofotometría de Absorción Atómica previa digestión en medio ácido.

Realizar la toma de muestras de las especies de peces “Bocachico” (*Prochilodus magdalenae*) y “Bagre” (*Pseudoplatystoma magdaleniatum*) con la ayuda de los pescadores de la región, en tres puntos sobre la ribera del Río Lebrija.

Analizar las muestras de peces obtenidas empleando la metodología validada para la determinación de Plomo y Cadmio mediante Espectrofotometría de Absorción Atómica previa digestión en medio ácido.

Comparar el cumplimiento de los niveles permisibles de plomo (Pb) y cadmio (Cd) en las especies de peces en estudio, teniendo en cuenta la Norma Técnica Colombiana NTC 1443:2009 “Productos de la pesca y acuicultura. Pescado entero, medallones y trozos, refrigerados o congelados”.

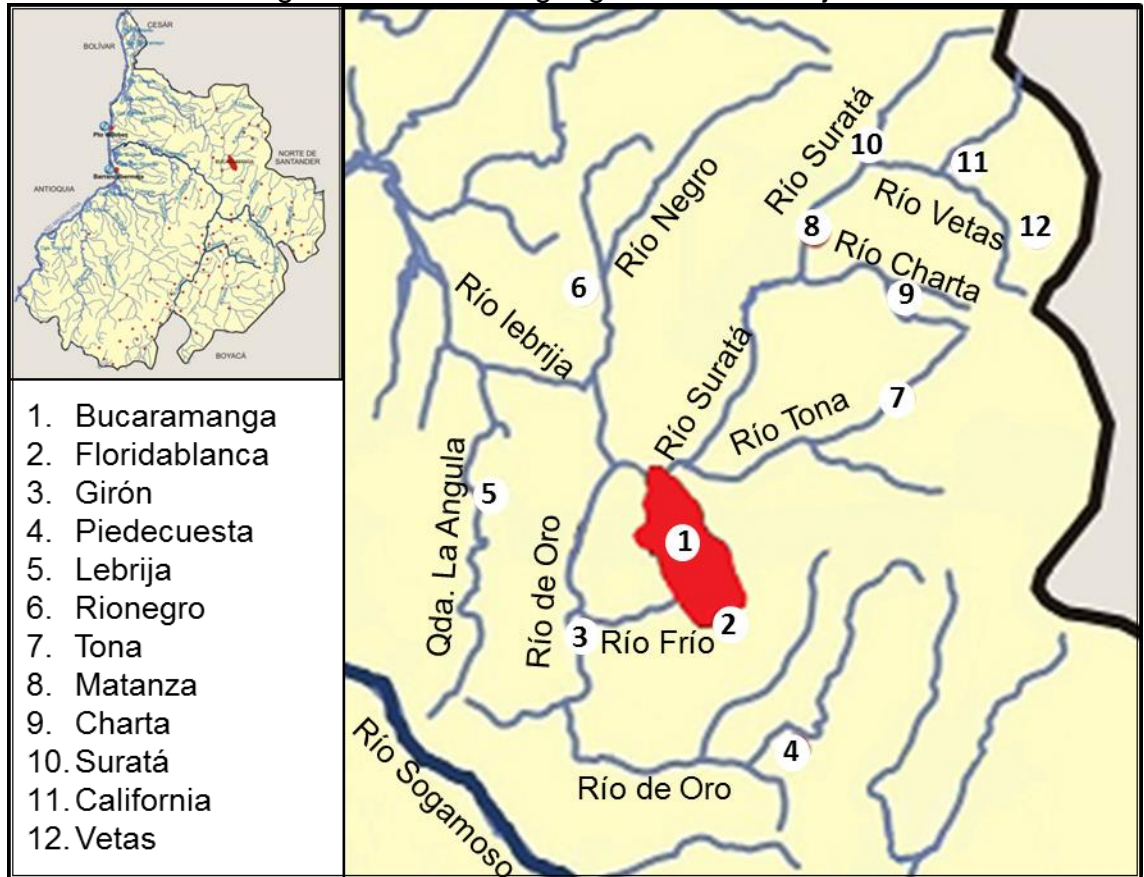
## 2. MARCO REFERENCIAL

### 2.1 MARCO TEÓRICO

#### 2.1.1 Área de estudio

El Río Lebrija se encuentra en el departamento de Santander-Colombia, nace de la unión de Río Suratá y Río de Oro, dentro de los afluentes del Río Lebrija se encuentran el Río Negro, Quebrada La Angula, Río Salamaga, y Río Cáchira, ver figura 1. En general estos afluentes son corrientes de buena calidad que se ven afectados por las descargas de las cabeceras municipales, pequeños centros poblados y vertimientos de actividades agropecuarias e industriales.

Figura 1. Ubicación geográfica Río Lebrija



Fuente: Adaptado de Mapa digital integrado IGAC, 2002.<sup>14</sup>

Como es bien conocido el Río de Oro recibe descargas contaminantes de todos los municipios del área metropolitana y a su vez el Río Frio principal afluente de contaminación, el cual recibe descargas industriales y domesticas del municipio de Floridablanca y parte de Bucaramanga, ver figura 1. Esta carga contaminante es trasportada por el río de Oro hasta su confluencia con el río Suratá el cual aguas

arriba recibe descargas de actividad minera en la confluencia con el río Vetas y aguas abajo de la boca toma del acueducto de Bucaramanga recibe descarga considerable del municipio de Bucaramanga, formado así el río Lebrija quien a su vez continua recibiendo cargas contaminantes de pequeñas poblaciones. El municipio de Sabana de Torres se encuentra ubicado geográficamente al Noroeste del Departamento de Santander, en la región denominada por el departamento, como Magdalena Medio Santandereano. Dentro de su división política encontramos el corregimiento Provincia ver figura 2, este corregimiento objeto de investigación limita con el municipio de Río negro y su principal fuente económica es la pesca.

Figura 2. Ubicación espacial corregimiento Provincia



Fuente: Adaptado de División político-administrativa municipio de Sabana de Torres, Alcaldía de Sabana de Torres – Santander.<sup>17</sup>

### 2.1.2 Especies de peces objetivos del estudio

#### *Prochilodus magdalenae*

Nombre común: Bocachico. Familia: Prochilodontidae. Especie: *Prochilodus magdalenae*. Localidad tipo: Colombia, Río Magdalena. Registros: Lebrija: confluencia quebrada La Angula con el Río Lebrija, Sabana de Torres: Ciénaga de Paredes.<sup>15</sup>

#### *Pseudoplatystoma magdaleniatum*

Nombre común: Bagre. Familia: Pimelodidae. Especie: *Pseudoplatystoma magdaleniatum*. Localidad tipo: Colombia departamento de Bolívar, Soplaviento ciudad sobre el dique de Cartagena carretera a Calamar, Río Magdalena. Registros: Lebrija: Río Lebrija, Sabana de Torres: Ciénaga de Paredes; caño Peruétano, Río Lebrija, ciénaga de Pita-Limón.<sup>16</sup> Esta especie era reconocida como *Pseudoplatystoma fasciatum* hasta que en el 2007, Buitrago-Suarez & Burr, realizaron un estudio taxonómico de las especies pertenecientes a este género y determinaron que los individuos que se encuentran distribuidos en la cuenca Magdalénica incluyendo el río Cauca pertenecen a esta nueva especie, la cual es considerada endémica para la cuenca.<sup>16</sup>

### 2.1.3 Interacción entre metales y peces

Para la mayoría de los organismos vivos, una exposición de metales pesados, por encima del umbral, puede ser considerablemente tóxica. Los metales de mayor importancia toxicológica y ecotoxicológica en los ambientes acuáticos son; Hg, As, Cr, Pb, Cd, Ni y Zn. Los principales iones de estos elementos suelen asimilarse en la célula a través de los mismos sistemas de transporte que utilizan otros cationes metálicos fisiológicamente importantes (Ca, Mg, Cu, Zn). Dentro de la red trófica, los organismos fotosintetizadores o productores son las principales vías de acceso de los metales hacia los consumidores, e incluso el ser humano.<sup>18</sup> La afinidad toxicológica de los metales pesados por los organismos acuáticos está influenciada no solo por su concentración; también son relevantes el tiempo de exposición y los factores bióticos y abióticos del ambiente.<sup>19</sup> Para considerar las relaciones de los metales con la biota acuática se deben tener en cuenta tres niveles de interés: a) la especiación en el ambiente, b) la interacción con la membrana plasmática en la interface organismo-ambiente y c) los efectos biológicos resultantes de su interacción con los receptores en los sitios de acción.<sup>19</sup>

### 2.1.4 Especiación del metal en el ambiente

La dificultad analítica para determinar las concentraciones de una sola especie o de un grupo de especies ha tenido por consecuencia que en general, se cuantifique la concentración total de elementos trazas en el ambiente. Sin embargo, el análisis de las distintas especies químicas es una de las herramientas importantes para predecir su comportamiento en el ecosistema y desarrollar medidas de remediación en caso de contaminación.<sup>19</sup>

### 2.1.5 Interacción metal-organismo

Al aproximarse a la superficie de un organismo vivo, un metal, generalmente, encuentra una capa protectora de polisacáridos o glicoproteínas. Las macromoléculas que forman esta capa externa contienen una variedad de grupos funcionales simples, generalmente no quelante, dominados por dadores de oxígeno. A valores de pH neutro algunos de esos grupos pueden ionizarse, conformando una matriz de sitios cargados negativamente a través del cual el metal debe migrar. Al moverse hacia el interior celular, el metal encuentra la membrana plasmática, con un gran número de receptores o sitios de unión que pueden ser de dos tipos: sitios fisiológicamente inertes, en los cuales el metal puede ser secuestrado sin perturbar el funcionamiento celular normal, o sitios fisiológicamente activos, en donde la unión del metal puede afectar al metabolismo y una vez dentro de la célula, puede interactuar con una amplia variedad de sitios, con las consiguientes alteraciones del metabolismo.<sup>20</sup>

Para que un metal se acumule y/o provoque una respuesta biológica en un organismo objetivo, debe interactuar o atravesar una membrana celular. Esta interacción del metal con la superficie celular, involucra como especies reactivas tanto al ion libre ( $M^{z+}$ ) como al complejo metal-ligando, de fórmula general, (ML), y puede ser representada en términos de la formación de complejos de superficie M-X-célula, donde X-célula corresponde a un ligando celular presente en la superficie. En el caso más simple - cuando el ión libre es la especie que reacciona con componentes de la superficie celular- se pueden considerar las siguientes reacciones:<sup>20</sup>

A. equilibrio en la solución



$$K_1 = [ML] / ([M^{z+}] [L]) \quad (II)$$

B. reacción, en la superficie, de  $M^{z+}$



$$K_2 = \{\text{M-X-célula}\} / \{\text{-X-célula}\} [M^{z+}] \quad (IV)$$

$$\text{reordenando } \{\text{M-X-célula}\} = K_2 \{\text{-X-célula}\} [M^{z+}] \quad (V)$$

donde  $K_1$  y  $K_2$  son las constantes de equilibrio, L es un ligando en solución, y las cargas en los complejos se omiten por simplicidad.

Se asume que la respuesta biológica es proporcional a la concentración del complejo de superficie,  $\{\text{M-X-célula}\}$ . Si la concentración de los sitios  $\text{-X-célula}$  libres permanece aproximadamente constante, la ecuación (V) indica que la respuesta biológica varía directamente como función de  $[M^{z+}]$ .

C. reacción, en la superficie, de ML



$$\{\text{M-X-célula}\} = K_3 \{\text{-X-célula}\} [ML] / [L] \quad (VII)$$

Reordenando la ecuación (II) y sustituyendo en (VII) se obtiene

{M-X-célula}= K<sub>1</sub> K<sub>3</sub>{-X-célula} [M<sup>Z+</sup>] (VIII)  
 que muestra la misma dependencia de [M<sup>Z+</sup>] que en la ecuación (V).

**2.1.6 Efectos biológicos resultantes de la interacción metal - organismo**

Las respuestas toxicológicas pueden ser debidas a algunos daños causados por el metal; el desplazamiento de iones metálicos esenciales en biomolecular: es uno de los ejemplos mejor documentados, es la inhibición por Pb del ácido δ-aminolevulínico deshidratasa (ALAD) en vertebrados, donde el Zn es desplazado por dicho metal así como la alteración en la composición y conformación de los eritrocitos en *bufo arenarum* expuesto a iones plomo.<sup>21</sup> Existe también evidencia de metales que son capaces de sufrir proceso rédox dentro de la célula, que pueden inducir toxicidad por producción de radicales libres reactivos de oxígeno, como cadmio, magnesio, manganeso, cromo (VI), zinc y selenio.<sup>22, 23, 24</sup>

**2.1.7 Normatividad Colombiana**

En Colombia la norma NTC 1443: 2009 “Productos de la pesca y acuicultura. Pescado entero, medallones y trozos, refrigerados o congelados.” regula el contenido de metales pesados en pescado entero, medallones y trozos, refrigerados o congelados aptos para consumo, es una de las mayores preocupaciones. En la tabla 1, se relacionan los límites permisibles de metales en carne de pescado.

Tabla 1. Límites máximos en mg/Kg de Cd y Pb en pescado a nivel nacional.<sup>25</sup>

Contaminante	Límite máximo permisible
Cadmio, expresados como Cd, en mg/Kg	0,1
Plomo, expresados como Pb, en mg/Kg	0,4

**2.1.8 Normatividad internacional**

A nivel internacional se encuentran diversos organismos reguladores de los cuales se destaca el reglamento consolidado (CE) N° 1881/2006, de la Unión Europea y el Codex alimentarius 2002 de la FAO/WHO. En la tabla 2, se relacionan los límites permisibles de cadmio y plomo en pescado.

Tabla 2. Límites máximos en mg/Kg de Cd y Pb en pescado a nivel internacional.<sup>26</sup>

Contaminante	Unión Europea (CE) N° 1881/2006	Codex alimentarius 2002
Cadmio, mg/Kg	0,1	0,05
Plomo, mg/Kg	0,3	0,1

### 2.1.9 Espectroscopia de Absorción Atómica

Mediante espectroscopia de absorción atómica es posible determinar de forma cuantitativa la mayoría de los elementos de la tabla periódica a niveles de traza. Esta técnica se basa en la medida de la radiación absorbida por los átomos libres en su estado fundamental. En este proceso el átomo pasa desde un estado energético inferior a otro superior. Para que esto ocurra es necesario suministrar energía de una longitud de onda específica del elemento al cual se quiere excitar.<sup>27</sup> La fuente de radiación consiste en una lámpara que contiene un cátodo del elemento que se pretende analizar, el cual emite las radiaciones típicas de ese elemento. Al hacer incidir esta radiación a través de la muestra, los átomos absorberán parte de la energía emitida. La diferencia entre la energía incidente y la transmitida se recoge en un detector, permitiendo realizar una determinación cuantitativa del elemento. El sistema de obtención de átomos en estado fundamental de la muestra consiste en un nebulizador que transporta la muestra a un sistema energético, llama, donde se suministra a las moléculas la energía necesaria para romper los enlaces y obtener átomos en estado fundamental.<sup>28</sup>

### 2.1.10 Determinación de metales pesados en peces

Numerosas técnicas han sido empleadas en la determinación de metales en peces, entre las cuales cabe resaltar, voltamperometría de redisolución anódica diferencial de impulsos, previa digestión ácida mezcla 1:1 HNO<sub>3</sub>:HClO<sub>4</sub>;<sup>29</sup> ICP-MS previa digestión usando mezcla ácido nítrico – ácido perclórico,<sup>30</sup> Absorción atómica acoplado a horno de grafito, previa digestión microondas en medio ácido<sup>31</sup>, específicamente en la determinación de Pb y Cd en peces y comida de mar la técnica de absorción atómica con digestiones ácidas previas mezcla 1:1 HNO<sub>3</sub>:HClO<sub>4</sub>;<sup>32</sup> muestra llevada a ceniza y posterior digestión con ácido nítrico es usualmente empleada.<sup>33, 34, 35</sup>

### 2.1.11 Validación de técnicas analíticas

La validación es la “Confirmación mediante examen y suministro de evidencia objetiva de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto”.<sup>36</sup> La validación es una de las medidas reconocidas como parte necesaria de un sistema integral de garantía de la calidad en el ámbito de la química analítica.<sup>37</sup>

Diversas organizaciones internacionales han colaborado en la elaboración de protocolos sobre diseño, organización e interpretación de estudios de funcionamiento de métodos para la validación de técnicas de análisis por un laboratorio pero dichos protocolos no son de obligatoria aplicación debido a la autonomía que cada país posee para desarrollar sus políticas de calidad.<sup>38</sup>

Según la guía EURACHEM<sup>39</sup> un método debe validarse cuando sea necesario verificar que sus parámetros de desempeño son adecuados para el uso en un problema analítico específico. Por ejemplo:

- Un nuevo método desarrollado para un problema específico;

- Un método ya establecido revisado para incorporar mejoras o extenderlo a un nuevo problema;
- Cuando el control de calidad indica que un método ya establecido está cambiando con el tiempo;
- Un método establecido usado en un laboratorio diferente o con diferentes analistas o con diferente instrumentación;
- Para demostrar la equivalencia entre dos métodos, por ejemplo, entre un método nuevo y uno de referencia.

Bajo este contexto en la validación de un método analítico deben evaluarse las siguientes figuras de mérito: Límite de detección, límite de cuantificación, intervalo lineal, intervalo del método, sensibilidad, precisión y exactitud, cuyas definiciones están ampliamente establecidas en guía EURACHEM y Standard Methods. <sup>39, 40,41</sup>

**Mensurando:** magnitud que se desea medir.

**Precisión de medida:** Proximidad entre las indicaciones o los valores medidos obtenidos en mediciones repetidas de un mismo objeto, o de objetos similares, bajo condiciones especificadas.

Las “condiciones especificadas” pueden ser condiciones de repetibilidad, condiciones de precisión intermedia, o condiciones de reproducibilidad.

**Condición de repetibilidad de una medición:** Condición de medición, dentro de un conjunto de condiciones que incluye el mismo procedimiento de medida, los mismos operadores, el mismo sistema de medida, las mismas condiciones de operación y el mismo lugar, así como mediciones repetidas del mismo objeto o de un objeto similar en un periodo corto de tiempo.

**Condición de precisión intermedia de una medición:** condición de medición, dentro de un conjunto de condiciones que incluye el mismo procedimiento de medición, el mismo lugar y mediciones repetidas del mismo objeto u objetos similares durante un periodo amplio de tiempo, pero que puede incluir otras condiciones que involucren variaciones.

**Condición de reproducibilidad de una medición:** Condición de medición, dentro de un conjunto de condiciones que incluye diferentes lugares, operadores, sistemas de medida y mediciones repetidas de los mismos objetos u objetos similares.

**Exactitud de medida:** proximidad entre un valor medido y un valor verdadero de un mensurando.

**Límite de detección:** Valor medido, obtenido mediante un procedimiento de medida dado, con una probabilidad  $\beta$  de declarar erróneamente la ausencia de un

constituyente en un material, dada una probabilidad  $\alpha$  de declarar erróneamente su presencia.

**Límite de cuantificación:** Valor medido, obtenido mediante un procedimiento de medida dado, que puede determinarse con precisión y exactitud razonables bajo condiciones establecidas.

**Linealidad:** Hace referencia a la proporción entre la concentración y la señal de respuesta que da el instrumento. Quatrocchi

**Intervalo lineal:** Intervalo comprendido entre la concentración mínima y máxima de mensurando para el cual el método ha sido probado y dentro del cual se puede efectuar el dopaje por interpolación en una curva de calibración.

**Intervalo de trabajo:** Intervalo entre el nivel más bajo y más alto de concentración. Ha sido demostrado que puede ser determinado con la precisión y exactitud requeridas para una determinada matriz.

**Sensibilidad:** Respuesta del instrumento de medición frente a pequeñas variaciones de la concentración del mensurando.

**Contraste de significación:** Prueba estadística que permite comprobar si la diferencia entre la cantidad medida y la cantidad conocida se puede atribuir a errores sistemáticos y probar estadísticamente si la diferencia entre dos varianzas muestrales se puede atribuir a errores aleatorios.<sup>42</sup>

**Grados de libertad:** Número de desviaciones independientes que se utilizan en un método.<sup>42</sup>

**Prueba student:** Esta prueba permite comparar las medias muestrales de dos grupo de datos y determinar si entre estos parámetros las diferencias son estadísticamente significativas.<sup>42</sup>

**Contraste F:** Prueba estadística empleada para probar si es significativa la diferencia entre dos varianzas muestrales y detectar errores aleatorios.<sup>42</sup>

## 2.2 MARCO DE ANTECEDENTES

En Croacia un grupo de investigadores en el año 2011 determinaron las concentraciones de arsénico, cadmio, cobre, mercurio y plomo por espectrometría de absorción atómica en el tejido muscular de cuatro especies de peces anchovy (*Engraulis encrasicolus*), mackerel (*Scomber japonicus*), red mullet (*Mullus surmuletus*) and picarel (*Spicara smaris*) provenientes del mar Adriático encontrando niveles inferiores a los establecidos por la normatividad de la unión

européa para los metales cadmio, plomo, mercurio, y cobre; sin embargo, el arsénico se encontró en niveles superiores a los permitidos en la especie red mullet (*Mullus surmuletus*).<sup>43</sup>

En Venezuela, al evaluar las concentraciones de cadmio y plomo en Bocachico (*P. reticulatus*) de los ríos Guasare y Carichuano (Estado Zulia) durante el año 2009, se encontraron valores 100 veces por encima de los valores reportados para el agua de estos ríos (valores en agua: 0,01 y 0,02 mg/L para cadmio y de 0,05 y 0,1 mg/L para plomo) demostrando la grave problemática de la bioacumulación de estos metales.<sup>44</sup>

En Colombia, numerosos estudios de contaminación en peces son reportados en la literatura, sin embargo la mayoría de estos estudios son enfocados a la contaminación por mercurio en tejido muscular de diferentes peces,<sup>45, 46, 47</sup> donde se muestra que en especies iliófagas como *Prochilodus magdalenae* las concentraciones de mercurio son bajas, comparadas con las de especies carnívoras como la arenca *T. magdalenae*, *Hoplias malabaricus*.

En la zona de estudio del presente proyecto, Lamus y colaboradores<sup>48</sup> caracterizaron las aguas y sedimentos de la zona de influencia del embalse de Bocas en el año 2005. Este embalse se alimenta del Río Lebrija, antes de las descargas contaminantes aportadas por las subcuencas Río de Oro, Suratá y Río Negro. En este estudio se encontraron concentraciones de metales en aguas y sedimentos dentro del rango descrito en los artículos 40 y 41 del decreto 1594 de 1984 en lo referentes a los destinos del recurso del agua para el uso agrícola y pecuario.<sup>49</sup> Sin embargo, no se han realizado estudios sobre la contaminación en peces de la zona que pueda demostrar problemas de bioacumulación de metales.

En la universidad de Santiago de Cali, se realizó una compilación de información interesante sobre la bioacumulación de metales pesados en agallas y tejidos de peces, encontrando que los mayores factores de bioacumulación se encontraron principalmente en los órganos implicados con el metabolismo del metal como el hígado así mismo, había una relación positiva entre los factores de bioacumulación y la edad de los peces, la especie del pez es un factor altamente importante en la bioacumulación.<sup>50</sup>

Habitantes del corregimiento provincia y demás poblaciones aledañas al río Lebrija de la jurisdicción del Municipio de Sabana de Torres, han reportado varias emergencias ambientales por mortandad de centenares de peces, generando una problemática socio ambiental, teniendo en cuenta que cerca de 6000 familias ubicadas a lo largo del río Lebrija dependen económicamente de la pesca. Sin embargo, pese a las denuncias ante las autoridades ambientales no se han reportado estudios de contaminantes en peces. Frente a esta situación el presidente de la Asociación de pescadores y mineros del Río Lebrija, manifestó: que la ola de peces muertos a orillas del Río Lebrija es una situación que se viene viviendo desde

hace 25 años y es producto de la carga contaminante antropogénica del Río de Oro y demás afluentes provocando la muerte de los peces.<sup>11</sup>

Aguas arriba de estas emergencias ambientales, se encuentra ubicado el embalse Linderos, ubicado en el corregimiento de bocas donde en repetidas ocasiones se ha demostrado la baja eficiencia de la hidroeléctrica a causa del aumento en la contaminación de los afluentes río de Oro y río Negro. Los problemas de eficiencia en parte se debe a la gran sedimentación que se presenta en el embalse, una medida optada por la ESSA es el denominado desembalse, el cual consiste en abrir las compuertas para que salga todo el sedimento, estos desembalses son periódicos y generan una descarga puntual que puede llevar los metales sedimentados y de esta forma contaminar la cadena trófica sobre el río lebrija.<sup>13</sup>

### 3. DISEÑO METODOLÓGICO

#### 3.1 MÉTODO ANALÍTICO

En el presente proyecto de grado se realizó la validación de la determinación de cadmio y plomo en Bocachico y una comparación estadística para extender el alcance a la especie bagre, la validación fue basada en las guías Eurachem y Standard Methods, la determinación cuantitativa se llevó a cabo mediante la técnica de absorción atómica empleando el Espectrofotómetro Thermo Scientific., modelo iCE 3000 series (figura 3), para ello se realizaron curvas de calibración teniendo en cuenta los parámetros para cada metal (tabla 3) empleando material de referencia certificado trazable a la NIST en medio acuoso y por interpolación se determinó la concentración de los mensurandos de interés presentes en los pescados previamente muestreados.

Tabla 3 Parámetros de operación del equipo de absorción por llama.

Lámpara	Cátodo Hueco de Cd	Cátodo Hueco de Pb
Longitud de onda	228.8 nm	217 nm
Gas combustible	Acetileno	Acetileno
Gas oxidante	Aire	Aire
Mechero	quemador de 50mm de Ti.	quemador de 50mm de Ti.

Figura 3. Espectrofotómetro Thermo Scientific, modelo iCE 3000 series



Fuente: Autores

La metodología analítica validada en el laboratorio de investigación de la facultad de química ambiental de la universidad Santo Tomas sede Floridablanca consta de los siguientes pasos:

Se preparó el pescado dejando carnosidad (músculo) y piel, posteriormente este fue picado y homogenizado con la ayuda de una picadora eléctrica de alimentos para su digestión y análisis.

Se pesaron en todos los casos alrededor de 20 g de muestra húmeda en un crisol de porcelana, posteriormente se llevaron las muestras a cenizas a la mufla a una temperatura entre 450 – 500 °C (controlando que la temperatura no sobrepase los 550 °C) por un periodo de 10 horas. Se dejaron atemperar los crisoles y lentamente se adicionaron 2 mL de HNO<sub>3</sub>, posteriormente se ingresaron a la mufla programando una temperatura entre 450 – 500 °C durante 1 hora. Se retiraron los crisoles y se les dejó alcanzar su temperatura ambiente. En los casos que se requiera se debe repetir el tratamiento con HNO<sub>3</sub>, hasta obtener ceniza limpia, prácticamente libre de carbono.

Se adicionaron 10 mL HCl 1.0 N y se disolvieron en una placa de calentamiento evitando salpicar la muestra. El digestado se atempero y fue transferido a un matraz aforado de 25 mL aforando con HCl 1.0 N.<sup>33, 34, 35</sup>

### 3.2 VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

En la tabla 4, se presentan las ecuaciones matemáticas de las figuras de mérito empleadas durante la validación y la evaluación del contenido de plomo y cadmio en bocachico.

Tabla 4. Figuras de mérito y criterios estadísticos para la validación.<sup>39, 40, 41, 42</sup>

Parámetros estadísticos	Ecuaciones	
Promedio	$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$ <p><i>n</i>: número de mediciones del mensurando  <i>X<sub>i</sub></i>: Medición del mensurando</p>	(1)
Desviación estándar	$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n - 1}}$	(2)

Límite de detección del método	$LDM = S_0 = \frac{S_{y/x}}{b_1} \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{N} + \frac{\bar{x}^2}{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}}$ <p> <math>S_{y/x}</math>: es la desviación estándar de los residuales de la recta de calibrado  <math>b_1</math>: es la pendiente de la recta de calibración  <math>N</math>: es el número de patrones de calibración  <math>x_i</math>: es cada una de las concentraciones de los patrones de calibración  <math>\bar{x}</math>: es la media de las concentraciones de los patrones de calibración. </p>	(3)
Límite de cuantificación del método	LCM = LDM * 2,5	(4)
Linealidad	$t_{cal} = \frac{ r \sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$ <p> <math>r</math> el coeficiente de correlación <math>r \geq 0,995</math>  <math>n</math> el número de pares usados para calcular <math>r</math>.  El valor calculado de <math>t</math> se compara con el <math>t</math> tabulado al nivel de significancia del 95%, usando la prueba <math>t</math> student de dos colas y <math>(n - 2)</math> grados de libertad </p>	(5)
Rango lineal	LCM – patrón de calibración mayor	(6)
Rango de trabajo	LCM - 10 veces patrón de calibración mayor	(7)
Sensibilidad analítica	pendiente	(8)
Intervalos de confianza	$\bar{x} \pm \frac{t_{n-1}S}{\sqrt{n}}$	(9)

<b>Rechazo de datos dudosos (T)<sup>51</sup></b>		
T <sub>bajo</sub>	$T_{bajo} = \frac{\bar{\bar{X}} - min}{S}$ <p>Dónde: min es el valor mínimo obtenido en el total de los datos</p>	(10)
T <sub>alto</sub>	$T_{alto} = \frac{\bar{\bar{X}} - max}{S}$ <p>max es el valor máximo obtenido en el total de los datos</p>	(11)

<b>Precisión</b>		
Repetibilidad Reproducibilidad intermedia Reproducibilidad	$CV = \frac{s}{\bar{x}} * 100$	(12)
<b>Exactitud</b>		
Porcentaje de error	$Er = \frac{(C_T - C_E)}{C_T} * 100$ C <sub>T</sub> : Concentración teórica C <sub>E</sub> : Concentración experimental	(13)
Porcentaje de recuperación	$\%R = \frac{(C_A - C_F)}{C_U} * 100$ C <sub>F</sub> : Concentración del mensurando medida en la muestra adicionada C <sub>U</sub> : Concentración en la muestra no adicionada C <sub>A</sub> : Concentración adicionada en la muestra	(14)
<b>Contrastes de significación</b>		
Contraste F	$F = \frac{S_1^2}{S_2^2}$ Donde 1 y 2 se disponen en la ecuación de modo que $F \geq 1$ El número de grados de libertad del numerador y denominador $n_1 - 1$ y $n_2 - 1$ Empleada para probar si es significativa la diferencia entre dos varianzas muestrales, $H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2$	(15)

Prueba Student	$t = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)}{s \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$	(16)
	<p>Donde s se calcula a partir de</p> $s = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{(n_1 + n_2 - 2)}}$ <p>El número de grados de libertad de t es <math>n_1 + n_2 - 2</math>  Empleada para decidir si la diferencia entre dos medias muestrales es significativa, <math>H_0: \mu_1 = \mu_2</math></p>	(17)

### 3.3 TOMA Y RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

Las muestras que se emplearon para desarrollar el presente proyecto se tomaron sobre el río Lebrija en el corregimiento Provincia en tres puntos típicos de pesca, con ayuda de pescadores de la región. Por cada punto se tomaron 5 muestras de bocachico, en temporada seca y temporada de lluvias para un total de 30 muestras de bocachico. A pesar de los múltiples intentos de los pescadores para obtener bagre no se obtuvo esta especie en ninguna de las dos temporadas muestreadas, según los pescadores esta especie ya no se está comercializando en la región.

Las muestras se refrigeraron en cavas con pilas refrigerantes y transportadas al laboratorio de investigación de la universidad Santo Tomas, donde se procesaron siguiendo el paso a paso de la metodología validada.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSION

### 4.1 CONFIRMACIÓN DE MÉTODO EN ESPECIES BOCACHICO Y BAGRE

Con el fin de reducir costos y tiempo en la validación se realizó una fortificación a un nivel de concentración bajo para las especies Bagre y Bocachico para demostrar que no existen diferencias significativas en precisión intermedia y exactitud entre las mediciones para las dos especies, se escogió una baja concentración de fortificación donde las metodologías presentan mayor dispersión en los resultados de acuerdo a la trompeta de Horwitz,<sup>52,53</sup> los resultados de los contrastes de significación se presentan en la tabla 4.

Tabla 5. Resultados contrastes de significación criterio F y t student

	Cadmio		Plomo	
	Bocachico	Bagre	Bocachico	Bagre
Promedio (mg/Kg)	0,034	0,032	0,133	0,128
N	8	8	8	8
S	0,00332	0,00218	0,01169	0,00971
Varianza	0,000011	0,0000047	0,00014	0,000094
F calculado	2,327		1,449	
F tabulado (P=0,05)	4,995		4,995	
t calculado	1,39		0,99	
t tabulado (P=0,05)	2,14		2,14	

Fuente: Autores

El valor F calculado tanto para cadmio como para plomo es inferior del valor F tabulado para 7 grados de libertad en el numerador como en el denominador a un nivel de significancia del 5 %, se acepta la hipótesis nula indicando que no existen diferencias significativas entre las varianzas obtenidas para bagre y bocachico empleando la metodología propuesta para la determinación de cadmio y plomo.

Comparando las medias muestrales mediante el contraste t student, para las muestras de bagre y bocachico fortificadas con cadmio y plomo se obtuvieron valores experimentales de t inferiores al valor t tabulado para 14 grados de libertad a un nivel de significancia de 5 %, aceptándose la hipótesis nula, no existe diferencia significativa en las medias muestrales.

Por lo anterior se acepta la hipótesis de que no existen diferencias significativas en precisión intermedia y exactitud para la determinación de cadmio y plomo en las especies bagre y bocachico.

## 4.2 VALIDACIÓN DEL MÉTODO DETERMINACIÓN DE PLOMO Y CADMIO EN BOCACHICO

### 4.2.1 Límite de detección y cuantificación

La mínima concentración detectable se calculó de acuerdo a la ecuación 3 y con los datos de las 10 curvas de calibración realizadas durante la validación (Figuras 4 y 5), los resultados para cadmio y plomo se encuentran en la tabla 5.

A partir del límite de detección calculado se determinó el límite de cuantificación de acuerdo a la ecuación 4 y se reporta en la tabla 5.

Tabla 6. Valores obtenidos de límites de detección y cuantificación.

<b>Metal en pescado</b>	<b>LDM Calculado mg/Kg</b>	<b>LCM Calculado mg/Kg</b>	<b>LCM Comprobado mg/Kg</b>
Plomo	0,015	0,039	0,125
Cadmio	0,0055	0,014	0,035

Fuente: Autores

El límite de detección obtenido mediante el cálculo fue de 0,0055 mg/Kg para el cadmio y de 0,015 mg/Kg para el plomo, a partir de los cuales se obtuvo el límite cuantificación de 0,014 mg/Kg para cadmio y de 0,039 mg/Kg para plomo, sin embargo estos valores obtenidos mediante el cálculo no fueron confirmados debido a que la curva de calibración elaborada no tiene en cuenta el efecto de matriz y concentraciones tan bajas presentan muy baja señal de respuesta del instrumento.

Con el fin de obtener resultados confiables de cadmio y plomo en las especies bagre y bocachico, se realizó la comprobación de la mínima concentración cuantificable empleando 2 analistas, mediante el análisis de 8 muestras fortificadas con 0,125 mg/Kg para plomo y 0,035 mg/Kg para el cadmio, con precisión intermedia evaluada como coeficiente de variación menores al 10 % y exactitud evaluada como porcentaje de recuperación entre el 80 y 110 %, no hubieron rechazo de datos de acuerdo al criterio T, ver tabla 6.

Tabla 7. Comprobación de los límites de cuantificación de Cd y Pb.

	<b>Bocachico</b>	<b>Bagre</b>	<b>Bocachico</b>	<b>Bagre</b>
	<b>mg/Kg Cd</b>		<b>mg/Kg Pb</b>	
Analista 1	0,033	0,029	0,12	0,12
Analista 1	0,037	0,034	0,14	0,12
Analista 1	0,029	0,033	0,12	0,12
Analista 1	0,029	0,030	0,15	0,12
Analista 2	0,034	0,030	0,14	0,14
Analista 2	0,034	0,033	0,12	0,12
Analista 2	0,038	0,029	0,15	0,15
Analista 2	0,034	0,034	0,12	0,12
Promedio	0,034	0,032	0,133	0,128
Desviación estándar	0,003	0,002	0,012	0,010
Coefficiente Variación	9,88	6,88	8,76	7,58
% Recuperación	93,0	87,5	93,3	89,0
Valor máximo	0,038	0,034	0,147	0,147
Valor mínimo	0,029	0,029	0,121	0,121
Criterio T max	1,33	1,15	1,12	1,89
Criterio T min	1,46	1,06	1,05	0,72
n	8	8	8	7
Criterio T tabulado	2,032	2,032	2,032	1,94

Fuente: Autores

#### 4.2.2 Sensibilidad del método

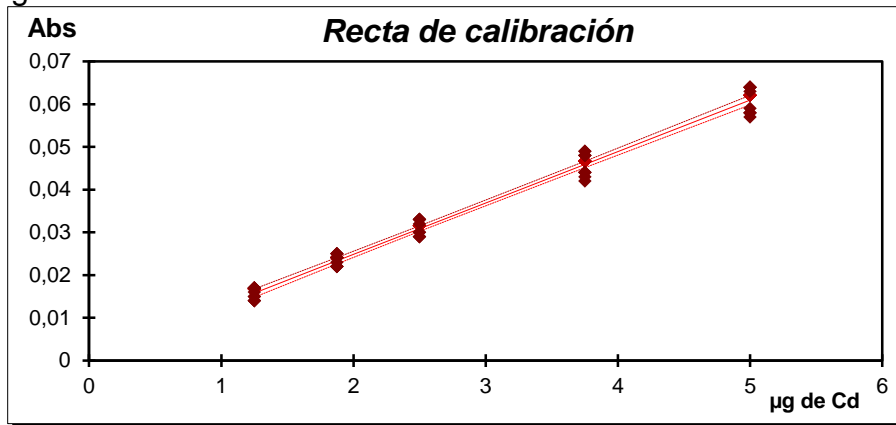
La sensibilidad se determinó como el promedio de las pendientes de las 10 curvas de calibración obtenidas durante la validación tanto para plomo como para cadmio (figura 4 y 5), a continuación se correlacionan los valores promedio obtenidos:

*Cadmio*

$$\bar{m} = 0,012 \frac{Abs}{\mu g Cd}$$

El valor de la sensibilidad indica que la variación en 1.0  $\mu g$  de Cd representa una respuesta del instrumento de 0,012 Abs.

Figura 4. Rectas de calibración obtenidas durante la validación Cd.



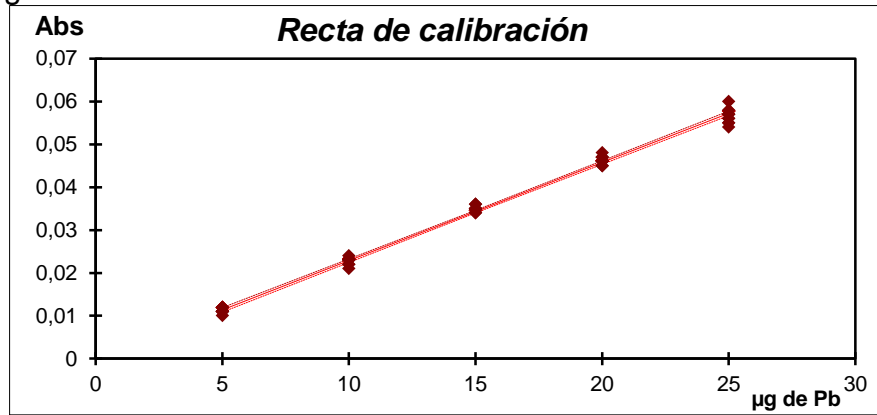
Fuente: Autores

Plomo

$$\bar{m} = 0,0023 \frac{Abs}{\mu g Pb}$$

El valor de la sensibilidad indica que la variación en 1.0 µg de Pb representa una respuesta del instrumento de 0,0023 Abs.

Figura 5. Rectas de calibración obtenidas durante la validación Pb.



Fuentes: Autores

Para evaluación de curvas de calibración posteriores se estimó el intervalo de sensibilidad para el 95 % de confianza, para cadmio un intervalo de confianza entre 0,0116 y 0,0124 por 1.0 µg de Cd y para plomo un intervalo de confianza entre 0,0022 y 0,0024 por 1.0 µg de Pb.

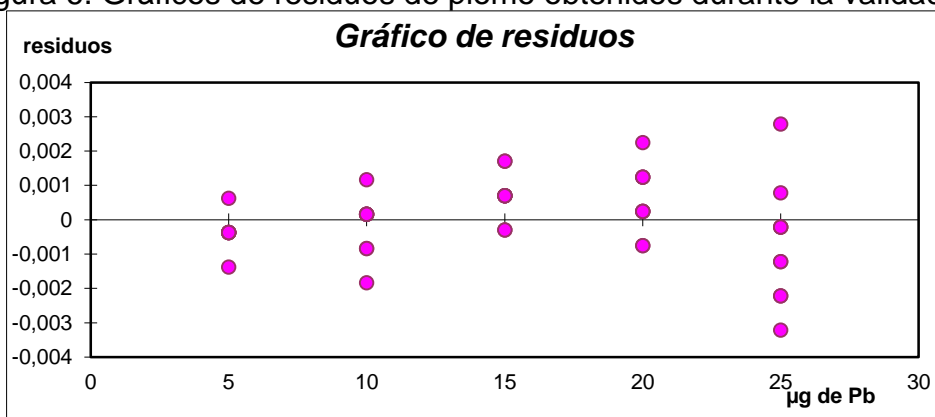
### 4.2.3 Intervalo lineal

#### *Plomo*

El intervalo lineal obtenido y empleado durante la validación fue de 2,50 a 25,0  $\mu\text{g}$  de Pb equivalente a 0,125 mg/Kg a 1,00 mg/Kg de Pb, en este rango se comprobó la linealidad obteniendo una correlación significativa  $t_{\text{cal}} 66,9 \gg t_{\text{tab}} 3,18$ .

El intervalo de trabajo con una dilución máxima de 1:10 es 0,125 mg/Kg a 10,0 mg/Kg de Pb.

Figura 6. Gráficos de residuos de plomo obtenidos durante la validación.



Fuente: Autores

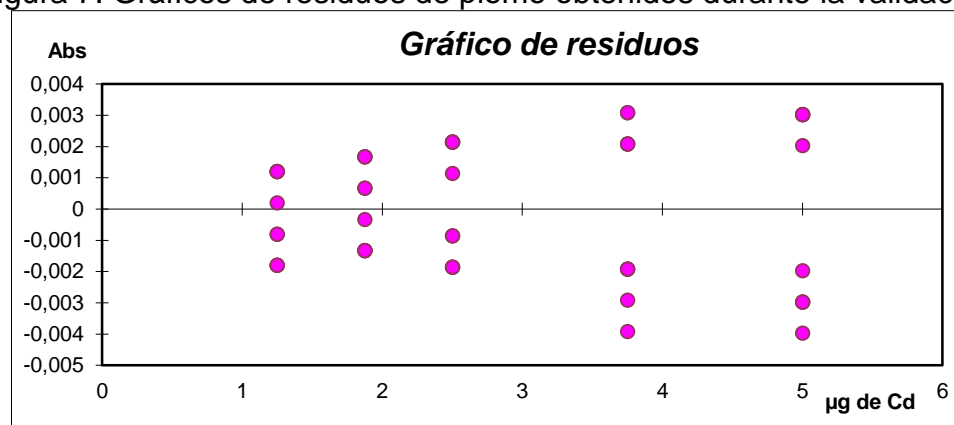
El gráfico de residuos (figura 6) indica que las medidas de absorbancia registradas durante la elaboración de las curvas de calibración, varían de forma aleatoria sin la presencia de tendencias pronunciadas, esto indica, que no existen errores sistemáticos durante la construcción de las curvas de calibración.

#### *Cadmio*

El intervalo lineal obtenido y empleado durante la validación fue de 0,70 a 5,00  $\mu\text{g}$  de Cd equivalente a 0,035 mg/Kg a 0,200 mg/Kg de Cd, en este rango se comprobó la linealidad obteniendo una correlación significativa  $t_{\text{cal}} 130 \gg t_{\text{tab}} 3,18$ .

El intervalo de trabajo con una dilución máxima de 1:10 es 0,035 mg/Kg a 2,00 mg/Kg de Pb

Figura 7. Gráficos de residuos de plomo obtenidos durante la validación.



Fuente: Autores

El gráfico de residuos (figura 7) indica que las medidas de absorbancia registradas durante la elaboración de las curvas de calibración, varían de forma aleatoria sin la presencia de tendencias pronunciadas, esto indica, que no existen errores sistemáticos durante la construcción de las curvas de calibración.

#### 4.2.4 Precisión

La precisión fue evaluada en términos de coeficiente de variación (CV) para las soluciones de referencia, blancos, muestras y muestras fortificadas empleadas durante la validación, como se muestra en las Tabla 7 y 8.

Tabla 8. Diseño experimental empleado para la validación de Pb en Bocachico.

Día	Blanco1 mg/L	Estándar1 mg/L	Pescado sin fortificar1 mg/Kg	Pescado fortificado1 mg/Kg	Blanco2 mg/L	Estándar2 mg/L	Pescado sin fortificar2 mg/Kg	Pescado fortificado2 mg/Kg
1	- 0,006	0,327	0,036	0,371	0,018	0,492	0,030	1,110
2	0,017	0,335	0,017	0,377	0,011	0,514	0,018	1,118
3	0,031	0,334	0,047	0,382	0,001	0,505	0,008	1,110
4	0,028	0,327	0,033	0,379	0,030	0,515	0,030	1,115
5	0,317	0,317	0,016	0,372	0,028	0,516	0,040	1,147
Media	0,022	0,328	0,030	0,376	0,018	0,5084	0,0252	1,120
Desv.	0,012 7	0,0072	0,0132	0,0047	0,0121	0,0102	0,0124	0,0158
%CV	58,2	2,20	44,4	1,24	69,0	2,00	49,1	1,41
% Error	-	-2,52	-	-	-	-1,68	-	-
% R.	-	-	-	-	93,9	-	-	98,8

Fuente: Autores

Tabla 9. Diseño experimental empleado para la validación de Cd en Bocachico

Día	Blanco1 mg/L	Estándar1 mg/L	Pescado sin fortificar1 mg/Kg	Pescado fortificado1 mg/Kg	Blanco2 mg/L	Estándar2 mg/L	Pescado sin fortificar2 mg/Kg	Pescado fortificado2 mg/Kg
1	2,989	76,6	0,001	0,069	-0,131	168	0,000	0,229
2	- 1,902	78,2	-0,006	0,073	1,133	164	0,002	0,222
3	0,253	77,3	0,001	0,071	0,442	166	0,001	0,219
4	- 2,380	79,1	-0,002	0,071	0,480	166	0,000	0,222
5	2,412	78,7	0,001	0,075	-0,492	165	-0,001	0,222
Media	0,274	78,0	-0,001	0,072	0,286	166	0,000	0,223
Desv.	2,435	1,028	0,003	0,002	0,624	1,416	0,001	0,004
%CV	887	1,32	-267	2,90	218	0,85	281	1,63
% Error	-	2,50	-	-	-	-3,62	-	-
% R.	-	-	-	97,3	-	-	-	100,5

Fuente: Autores

Se observaron resultados precisos con respecto a repetibilidad y precisión intermedia para las matrices estudiadas debido a que todos los resultados a excepción del blanco (BK) y la muestra sin fortificación obtuvieron un coeficiente de variación <10 % tanto para cadmio como para plomo.

Para el caso del blanco y la muestra sin fortificación se esperaba este resultado de CV >10 % ya que la dispersión de los blancos para los casos fotométricos es grande, de acuerdo a la trompeta de horwitz.<sup>52,53</sup>

La reproducibilidad de acuerdo a VIM no fue comprobada debido a que se desconocen laboratorios que tengan implementada la misma metodología analítica para la determinación de cadmio y plomo en las especies bocachico y bagre.

#### 4.2.5 Exactitud

La exactitud se evaluó en términos de porcentaje de recuperación para las muestras fortificadas y como porcentaje de error para los estándares de concentración conocida reportados en las tablas 7 y 8

En términos generales el método implementado para cadmio y plomo en peces es exacto debido a que los porcentajes de recuperación se encuentran dentro del rango de 80 a 110 % y los patrones empleados para la verificación de las curvas de calibración obtuvieron % error menores del 10 %. Lo que indica que los controles

de temperatura en la mufla, la homogenización de muestra, la digestión de la muestra y la preparación de patrones de las curvas de calibración se realizaron correctamente.

### 4.3 MUESTREO Y RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

En la tabla 9 se reportan los puntos de muestreo seleccionados con sus respectivas coordenadas (GPS Garmín Etrex Vista), el orden en el que fueron tomadas las muestras (con el fin de evitar contaminaciones cruzadas).

Tabla 10. Coordenadas puntos de estratégicos de muestreo

Orden muestreado	Punto de muestreo	Coordenadas		Altitud
		Norte	Oeste	
1	Conchal	7°16`51``	73°15`22``	881m
2	Salamaga	7°28`19``	73°27`43``	898m
3	Vanegas	8°20`53``	73°36`22``	902m

Fuente: Autores

### 4.4 EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE PLOMO Y CADMIO EN BOCACHICO

Todas las muestras fueron analizadas por duplicado, sin embargo debido a que ninguna de las muestras analizadas supero el límite de cuantificación del método no fue posible emplear el criterio de porcentaje de diferencia relativa (RPD)  $\leq 10\%$  planteado inicialmente.

Tabla 11. Contenido de Pb y Cd en Bocachico en época de lluvias.

Punto de muestreo	Muestra	Concentración	NTC	Concentración	NTC
		de Pb* mg/Kg	1443 mg/Kg	de Cd* mg/Kg	1443 mg/Kg
Conchal	1	0,022	0,4	0,005	0,1
	2	0,006	0,4	0,003	0,1
	3	0,024	0,4	0,003	0,1
	4	-0,009	0,4	0,005	0,1
	5	0,004	0,4	0,003	0,1
Salamaga	1	0,021	0,4	-0,001	0,1
	2	0,025	0,4	0,005	0,1
	3	0,028	0,4	0,002	0,1
	4	0,006	0,4	0,000	0,1
	5	0,012	0,4	-0,001	0,1
Vanegas	1	0,036	0,4	0,008	0,1
	2	0,051	0,4	0,010	0,1
	3	0,041	0,4	0,007	0,1
	4	0,039	0,4	0,004	0,1

5	0,029	0,4	0,003	0,1
---	-------	-----	-------	-----

\* promedio (replicas por muestra =2)

Fuente: Autores

Tabla 12. Contenido de Pb y Cd en Bocachico en época de sequía.

Punto de muestreo	Muestra	Concentración de Pb* mg/Kg	RPD (%)	Concentración de Cd* mg/Kg	RPD (%)
Conchal	1	-0,026	-	0,002	-
	2	-0,034	-	-0,001	-
	3	-0,003	-	-0,002	-
	4	-0,043	-	-0,002	-
	5	-0,028	-	0,000	-
Salamaga	1	0,010	-	0,001	-
	2	0,008	-	0,009	-
	3	0,002	-	0,002	-
	4	-0,038	-	0,004	-
	5	0,029	-	0,001	-
Vanegas	1	-0,018	-	0,004	-
	2	-0,015	-	0,003	-
	3	-0,015	-	0,006	-
	4	-0,020	-	-0,001	-
	5	-0,020	-	-0,001	-

\* promedio (replicas por muestra =2)

Fuente: Autores

Como se muestra en las tablas 10 y 11 la concentración de plomo y cadmio en carnosidad (músculo) y piel de las muestras tomadas en época de lluvia como seca se encuentran por debajo del límite de concentración cuantificable del método, para los tres puntos muestreados.

Valores reportados en la literatura de concentraciones de plomo en peces demuestran que los valores obtenidos en el presente trabajo se encuentran cercanos a los niveles de pescado libre de contaminación < 0,029.codex

Para el cadmio se registraron en bocachico valores  $\leq 0,01$  mg Cd/Kg, encontrándose dentro de las típicas concentraciones en músculo de pescado obtenidas por otros autores<sup>54</sup>.

## **4.5 COMPARACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES OBTENIDAS CON LA NORMATIVIDAD**

Se realizó comparación de los resultados obtenidos de cadmio y plomo en los tres puntos muestreados frente a la normatividad nacional e internacional, obteniéndose los siguientes resultados:

### **4.5.1 Normatividad colombiana**

Comparando los resultados obtenidos de cadmio y plomo en las muestras colectadas durante temporada de lluvia y de sequía (tablas 10 y 11) se encontró que ningún resultado excede los límites permitidos de la normatividad colombiana de acuerdo a la tabla 1.

### **4.5.2 Normatividad internacional**

Comparando los resultados obtenidos de cadmio y plomo en las muestras colectadas durante temporada de lluvia y de sequía (tablas 10 y 11) se encontró que ningún resultado excede los límites permitidos de la normatividad internacional consultada de acuerdo a la tabla 2.

## 5. CONCLUSIONES

La validación al interior del laboratorio de investigaciones de la Universidad Santo Tomás de Bucaramanga, permitió cuantificar y evaluar experimentalmente las figuras de mérito que dan confianza a los métodos analíticos. El límite de detección, límite de cuantificación, linealidad, sensibilidad, pruebas de significancia, precisión intermedia y exactitud, permitieron demostrar que la metodología implementada puede ser usada para la cuantificación de cadmio y plomo en las especies bocachico y bagre.

El método validado empleando la técnica de absorción atómica para la determinación de cadmio y plomo en bocachico presenta coeficientes de variación inferiores al 10 % lo que indica que los resultados presentan una baja dispersión y los porcentajes de recuperación obtenidos entre 80 a 110 % de las fortificaciones empleadas para los rangos bajo y alto, indican que la metodología es exacta y no presenta errores sistemáticos.

Las muestras analizadas de los puntos Conchal, Salamaga y Vanegas reportaron concentraciones de plomo (0,125 mg/Kg) y cadmio (0,035 mg/Kg) inferiores a los límites de cuantificación obtenidos en la validación.

La concentración de plomo y cadmio en carnosidad (músculo) y piel de las muestras tomadas se encuentran por debajo del límite de concentración cuantificable del método y por debajo de la normatividad ambiental vigente tanto nacional como internacional, lo cual demuestra que los niveles Cadmio y Plomo en peces muestreados no tiene efectos adversos para la salud humana.

El bocachico obtenido y vendido por los pescadores del área bajo estudio se encuentra libre de contaminación por los metales plomo y cadmio (músculo y piel), y no presentan un daño para la salud humana de acuerdo a los límites permisibles nacionales e internacionales.

Aun cuando las concentraciones obtenidas en el presente estudio se encuentran por debajo de las normatividades nacionales e internacionales, los resultados de Plomo en época de lluvias para los tres puntos en su mayoría se encuentran por encima de los límites de detección, dando indicios de pequeñas contaminaciones de plomo en esta especie; se resalta que la toxicidad por exposición diaria y bioacumulación de este metal más adelante cause un problema de salud pública.

Los resultados obtenidos indican que la causa de la mortandad de peces del corregimiento de Provincia, no se encuentra ligada a la contaminación con plomo y cadmio.

## **6. DIVULGACIÓN DE LOS RESULTADOS**

Se envió el resumen del proyecto al 32º congreso latinoamericano de química y XXXI jornadas chilenas de química que se realizara en Concepción, Chile del 19 al 22 de enero del 2016.

## **7. PROPUESTAS PARA TRABAJOS FUTUROS**

Realizar la evaluación del contenido de plomo y cadmio en pescado en los órganos implicados con el metabolismo del metal como el hígado.

Basados en la información suministrada por los habitantes de la zona, realizar la evaluación del contenido de plaguicidas en pescado.

Si se requieren obtener resultados con límites de cuantificación más bajos implementar la determinación de cadmio y plomo en pescado empleando la técnica de horno de grafito.

## BIBLIOGRAFIA

1. Chitrarasu, P.; Jawahar, A.; Babuthangadurai, T. Study on the Bioaccumulation of Heavy Metals in Commercially Valuable and Edible Marine Species of Ennore Creek , South India. *Int. J. Pharma Bio Sci.* **2013**, *4*, 1063–1069.
2. Raquel, S. Estado de Conocimiento de las Concentraciones de Cadmio, Mercurio y Plomo en Organismos Acuáticos de Venezuela. *REDVET. Rev. electrónica Vet.* **2009**, *10*, 4 – 11
3. Martínez, R.; Meza, R.; Aguirre, A.; Corza J. Impacto de Metales Pesados en el Ecosistema Acuático del Río Ayuquila. Tesis, Universidad de Guadalajara. Autlán de Navarro, Jalisco. Diciembre 2008.
4. Alvarez, R. Efectos del aprovechamiento de metales preciosos en Colombia: los metales pesados en las aguas continentales, estuarinas y marinas; manizales, Tesis pregrado, Universidad de Manizales, Colombia, Diciembre 2009.
5. Díaz, O.; Encina, F.; Recabarren. E.; Estudio de la concentración de arsénico, mercurio, plomo y fenantreno en la macha (*Mesodesma donacium*). Implicancias alimentarias y toxicológicas; *Rev. Chil. Nutr.* **2008**, *35*, 53-60.
6. Ramírez, A. Toxicología del Cadmio. Conceptos actuales para evaluar exposición ambiental u ocupacional con indicadores biológicos; Lima, 2002; 63, pp 51 – 64.
7. Mancera, N.; Álvarez, R. Estado del conocimiento de las concentraciones de mercurio y otros metales pesados en peces dulceacuícolas de Colombia, *Acta Biológica Colombiana*, **2006**, *11*, 3-23.
8. Galvis Ramírez y Cía S.A. Alertan por grave mortandad de peces en Santander. *Vanguardia.com.* [Online] **2010**. <http://www.vanguardia.com/historico/52088-preocupa-mortandad-de-peces-en-el-río-lebrija>, enero 2010, (Accesado octubre 15, 2014).
9. Denuncian mortandad de peces en río Lebrija. *Caracol.com.co.* [Online] 2011. <http://www.caracol.com.co/noticias/regionales/denuncian-mortandad-de-peces-en-río-lebrija/20110214/nota/1426001.aspx>, febrero **2011**, (Accesado octubre 15, 2014).
10. Galvis Ramírez y Cía S.A. Alertan por grave mortandad de peces en Santander. *Vanguardia.com.* [Online] **2013**. <http://www.vanguardia.com/santander/barrancabermeja/218834-alerta-por-grave-mortandad-de-peces-en-sabana-de-torres>, agosto 2013 (Accesado octubre 15, 2014).
11. Galvis Ramírez y Cía S.A. Alertan por grave mortandad de peces en Santander. *Vanguardia.com.* [Online] **2015**. <http://www.vanguardia.com/santander/barrancabermeja/296667-contaminacion-del-río-lebrija-es-generada-por-bucaramanga>. Enero **26 2015**, (Accesado enero 29, 2015).

12. Torres, H.; Torres, C. Determinación de Cadmio, Plomo y Mercurio mediante Espectro fotometría de Absorción Atómica (EAA) en las estructuras calcáreas del coral *Diploria clivosa*, del Sotavento de la isla de Barú (Caribe Colombiano). *Rev. Ingenio libre*. **2005**, 4, 49–53.
13. Diario adn. Por mortandad de peces, exigen compensación para familias afectadas. <http://diarioadn.co/actualidad/colombia/contaminaci%C3%B3n-del-r%C3%ADo-lebrija-1.141599?localLinksEnabled=false>. (Accesado enero 29, 2015).
14. Instituto Geográfico Agustín Codazzi – IGAC. <http://www.igac.gov.co/igac> (accesado Nov 21, 2014).
15. Castellanos, C.; Marino, L. Peces del Departamento Santander, Colombia. *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* **2011**, 35, 189-212.
16. Maldonado, J., Ortega, A.; Usma, O. *Peces de los Andes de Colombia*. Instituto de investigación de Recursos Biológicos “Alexander von Humboldt”; Bogotá D.C., 2005; pp. 42–43.
17. División político-administrativa municipio de Sabana de Torres, Alcaldía de Sabana de Torres – Santander. <http://www.sabanadetores-santander.gov.co/index.shtml>, (accesado Octubre 16, 2014).
18. Chávez, C.; Castro, J.; Díaz, F.; Monroy, M. Modelo conceptual de riesgo ambiental por arsénico y plomo en el distrito minero de Santa María De La Paz, San Luis Potosí, México. *e-Gnosis*. **2011**, 9, pp. 1-25
19. Jimenez, D. Cuantificación de metales pesados (cadmio, cromo, níquel y plomo) en agua superficial, sedimentos y organismos (*crassostrea columbiensis*) ostion de mangle en el puente portete del estero salado (guayaquil). Tesis pregrado, Universidad de Guayaquil, Ecuador, 2012.
20. Castañé, P.; Topalián, M.; Cordero, R.; Salibián, A. Influencia de la especiación de los metales pesados en medio acuático como determinación de su toxicidad. *Rev. Toxicol.* **2003**, 20, 13–18.
21. Arrieta, M.; Peri, S.; Apatin, C.; Rosenberg, C.; Fink, N. Blood lead concentration and delta-aminolevulinic acid dehydratase activity in adult *Bufo arenarum*. *Archives of Physiology and Biochemistry*. **2000**, 108, 275–280.
22. Rosenberg, C.; Peri, S.; Arrieta, M.; Fink, N. Red blood cell osmotic fragility in *Bufo arenarum* exposed to lead. *Archives of Physiology and Biochemistry*. **1998**, 106, 19-24.
23. Kasprzak, K. Role of Oxidative Damage in Metal-Induced Carcinogenesis. *Cellular Effects of Heavy Metals*. **2011**, 237-259.
24. Snyder, D. *Role of active oxygen species in metal-induced DNA strand breakage in human diploid fibroblasts. Mutation Research/DNA Repair Reports*. **2002**, 193, 237-246.
25. Norma Técnica Colombiana. NTC 1443. Productos de la pesca y acuicultura. Pescado entero, medallones y trozos, refrigerados o congelados. 2009.
26. Moncayo D., Trejos, R., Mariduena A. y Castro R. Niveles de mercurio, cadmio y plomo en productos pesqueros de exportación. *Rev. Ciencias del Mar y Limnología*, (2010), V.4(1): pg 65-74.

27. Skoog, D.; Holler, F.; Crouch, S. Principios de Analisis Instrumental; Cengage Learning Latin America: México D. F., 2008; 6, pp 203–244.
28. Rubinson, K.; Rubinson, J. Análisis Instrumental; Prentice Hall: Madrid, 2001; 8, pp. 308–311.
29. Ahmed, F.; Al-Hossainy, A.; Adila, E. Mohamed, B. Determination of cadmium and lead in perch fish samples by differential pulse anodic stripping voltammetry and furnace atomic absorption spectrometry. Arabian Journal of Chemistry. 2012.
30. Nord, L.; Craig, D.; Bobby, G. Lead, zinc, copper, and cadmium in fish and sediments from the Big River and Flat River Creek of Missouri's Old Lead Belt. Environmental Geochemistry and Health. **2004**, 26, 37–49.
31. Olmedo, P.; Pla, A.; Hernández, A.; Barbier, F. Determination of toxic elements (mercury, cadmium, lead, tin and arsenic) in fish and shellfish samples. Risk assessment for the consumers. Environment International. **2013**, 59, 63–72.
32. Dwumah, Stephen. Studies on levels of mercury, cadmium and zinc in fish and sediments from river offin in Ghana. Master of science (analytical chemistry), Kwame Nkrumah University of Science and Technology, Kumasi, Ghana, 2008.
33. PerkinElmer. Atomic spectrometry, Analytical Methods for Atomic Absorption. Singapore, 2000; pp 199-200.
34. Norma Técnica Colombiana. NTC 1322. Productos de la pesca. Métodos de análisis físicos y químicos, 2007.
35. Quezada, A.; Corcuy, N.; Moreno, J. Niveles de plomo en músculo de sábalo (*Prochilodus lineatus* y *P. nigricans*) provenientes del río Pilcomayo y río Grande. Tesis de pregrado, UAGRM. Santa Cruz, Bolivia, 2005.
36. International Organization for Standardization. ISO 8402, Quality management and quality assurance – Vocabulary. 1994.
37. Norma Técnica Colombiana. NTC-ISO/IEC 17025. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración. 2005.
38. Castillo, B.; Gonzáles, R. Protocolo de validación de métodos analíticos para la cuantificación de fármacos. Revista Cubana de Farmacia. 1996, 3, 01-10.
39. EURACHEM/CITAC. Guide to quality in analytical chemistry: An aid accreditation, 2014.
40. Standard methods for the examination of water and wastewater; American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA), Water Environment Federation (WEF). 2012, Vol. 22, 25-86.
41. Barwick, V. Prichard, E. (Eds). Eurachem Guide: Terminology in Analytical Measurement – Introduction to VIM 3, 2011, 1, pp. 1-24.
42. Miller James; Miller Jane. Estadística y quimiometría para Química Analítica, Prentice Hall: España, 2002, 4, pp. 43-55.
43. Bilandžić, N; Đokić, M.; Sedak, M. Metal content determination in four fish species from the Adriatic Sea. Food Chem. 2011, 124, 1005-1010.
44. Salazar, R. Estado de conocimiento de las concentraciones de cadmio, mercurio y plomo en organismos acuáticos de Venezuela. Revista electrónica

- de Veterinaria. **2009**, 10, N° 11.  
<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n1111109.html>. (accesado Oct 13, 2014).
45. Olivero, J.; Navas, V.; Pérez, A.; Solano, B.; Acosta, I.; Argüello, E.; Salas, R. Mercury Levels in Muscle of Some Fish Species From the Dique Channel. *Bull. Environ Contam Toxicol.* **1997**, 58, 865-870.
  46. Olivero, J.; Solano, B.; Acosta, I. Total Mercury in Muscle of Fish From Two Marshes in Goldfields, Colombia. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **1998**, 61, 182-187.
  47. Olivero, J.; Solano, B. Mercury in environmental samples from a water body contaminated by gold mining in Colombia, South America. *Sci. Total Environ.* **1998**, 217, 83-89.
  48. Lamus, C.; Segura, G. Caracterización de sedimentos y aguas de la zona de influencia del embalse de Bocas de la central hidroeléctrica de Palmas operado por la electrificadora de Santander S.A. Tesis pregrado, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, 2005.
  49. Ministerio de Agricultura, Ministerio del Medio Ambiente, Decreto No. 1594. República de Colombia, Bogotá Jun 26, 1984.
  50. Zorrilla, M. Estado del arte sobre la presencia de metales pesados en tejidos y agallas de peces. Tesis pregrado, Universidad Autónoma De Occidente, Santiago de Cali, 2011.
  51. Standard Practice for Dealing With Outlying Observations ASTM **E178 – 08** Copyright © ASTM International, 100 Barr Harbor Drive, PO Box C700, West Conshohocken, PA 19428-2959. United States
  52. Horwitz W; Albert R. The Horwitz Ratio (HorRat): A Useful Index of Method Performance with Respect to Precision. *Assoc. Off. Anal. Chem.*, Vol. 89, No. 4, 2006; pp. 1095-1109.
  53. Horwitz W; Kamps L y Boyer R. Quality Assurance in the Analysis of foods for Trace Constituents. *J Assoc. Off. Anal. Chem.*, Vol. 63, No. 6, 1980; pp. 1344-1354.
  54. Codex Alimentarius Commission. Codex Committee on Food Additives and Contaminants: Maximum levels for lead in fish. Joint FAO/WHO Food Standards Programme. United Nations, Rome, 2002.

## ANEXOS

### ANEXO A. Toma recolección y tratamiento de muestras

#### Toma recolección y tratamiento de muestras



Figura 8. GPS Garmín Etrex Vista empleado para la toma de coordenadas.



Figura 9. Embalse Linderos, Bocas, Santander



Figura 10. Toma de muestras por parte de pescadores de la zona (Conchal)

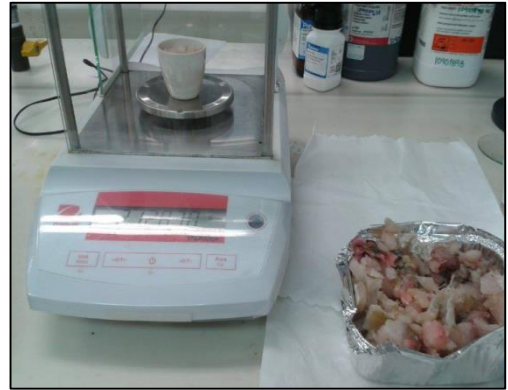


Figura 11. Pesaje de muestra (muestra empleada durante las fortificaciones).

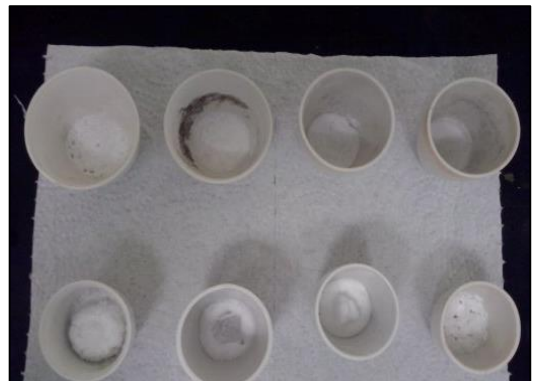


Figura 12. Calcinación de las muestras en mufla.



Figura 13. Digestión ácida previa calcinación de muestra.

## ANEXO B: Resultados contrastes de significación criterio F y t student

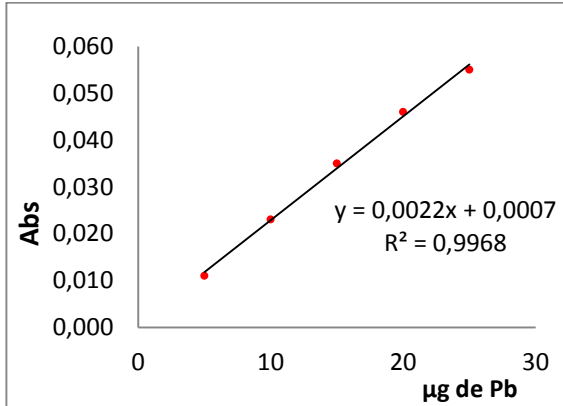
Tabla 13. Resultados contrastes de significación criterio F y t student

	Plomo (mg/Kg)		Cadmio (mg/Kg)	
	Bocachico	Bagre	Bocachico	Bagre
1	0,372	0,361	0,068	0,066
2	0,347	0,325	0,070	0,067
3	0,387	0,338	0,068	0,062
4	0,410	0,325	0,067	0,067
5	0,375	0,406	0,070	0,070
6	0,382	0,380	0,070	0,065
7	0,392	-	0,070	-
Promedio	0,38069	0,35594	0,069	0,066
n	7	6	7	6
s	0,01946729	0,03269986	0,00139321	0,00289221
varianza	0,00037898	0,00106928	1,941E-06	8,3649E-06
F calculado	2,82		4,309	
F tabulado (P=0,05)	5,988		5,988	
t calculado	1,7		2,14	
t tabulado (P=0,05)	2,21		2,21	

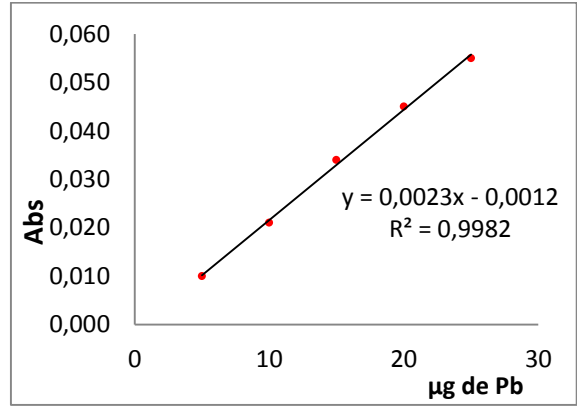
## ANEXO C: Curvas de calibración de plomo

Curvas de calibración de plomo elaboradas durante la validación y empleadas para el cálculo de la mínima concentración cuantificable.

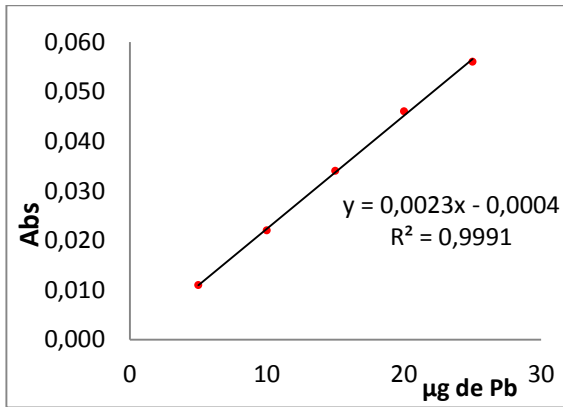
Día 1 – analista 1



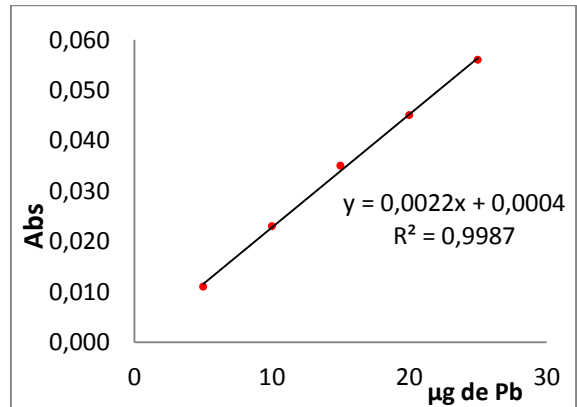
Día 2 – Analista 2



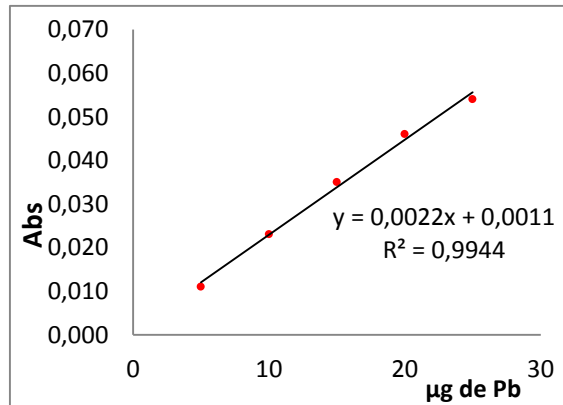
Día 3 – analista 1



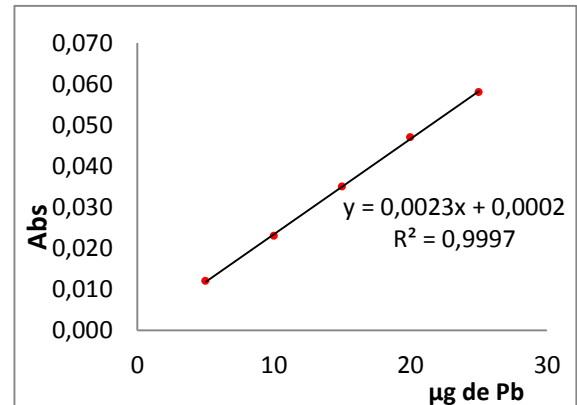
Día 4 – Analista 2



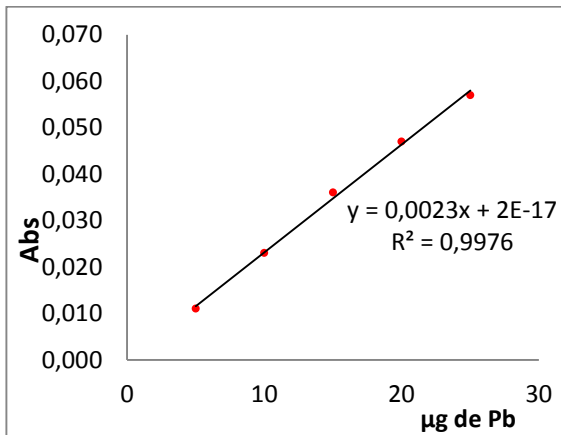
Día 5 – analista 1



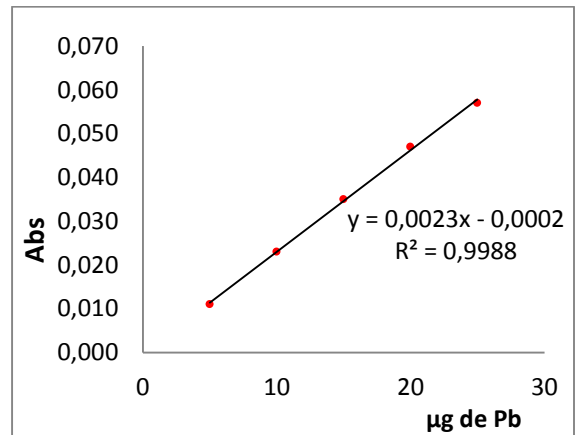
Día 6 – Analista 2



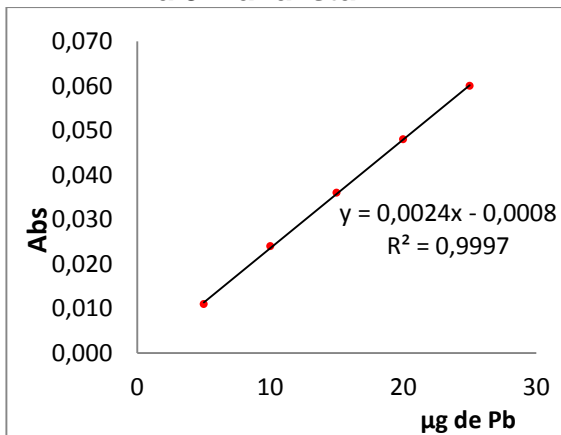
**Día 7 – analista 1**



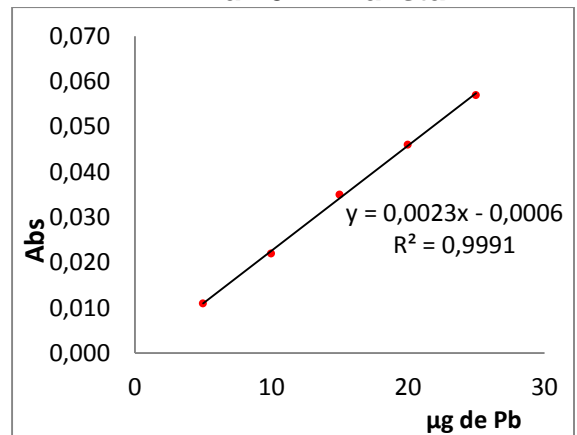
**Día 8 – Analista 2**



**Día 9 – analista 1**



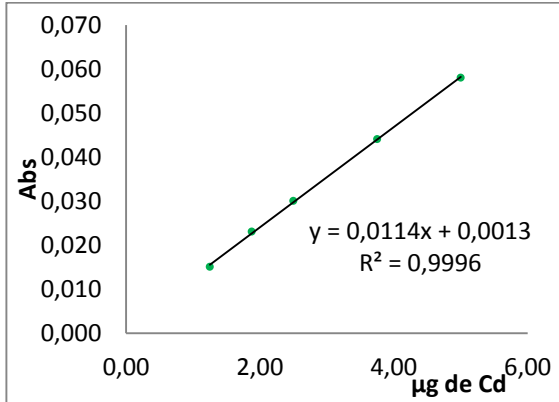
**Día 10 – Analista 2**



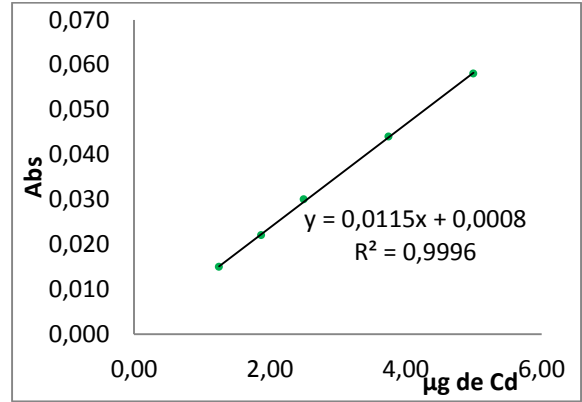
## ANEXO D: Curvas de calibración de cadmio

Curvas de calibración de cadmio elaboradas durante la validación y empleadas para el cálculo de la mínima concentración cuantificable.

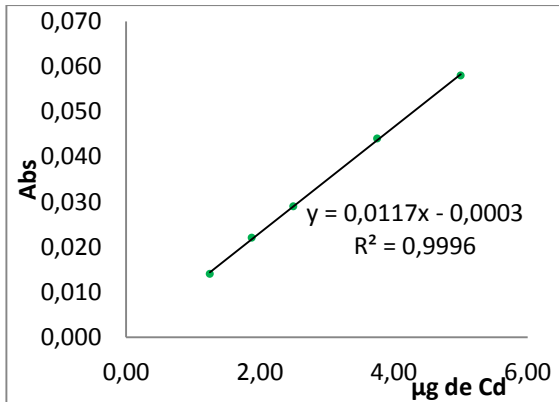
Día 1 – analista 1



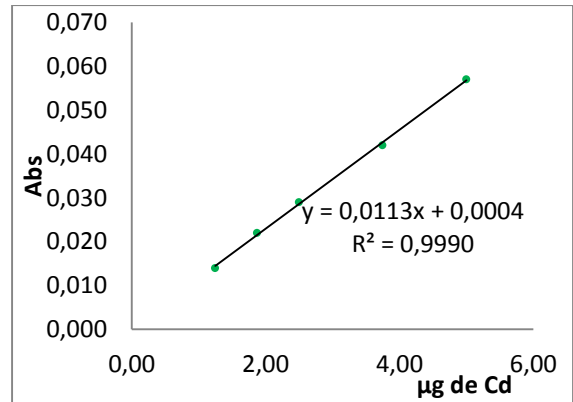
Día 2 – Analista 2



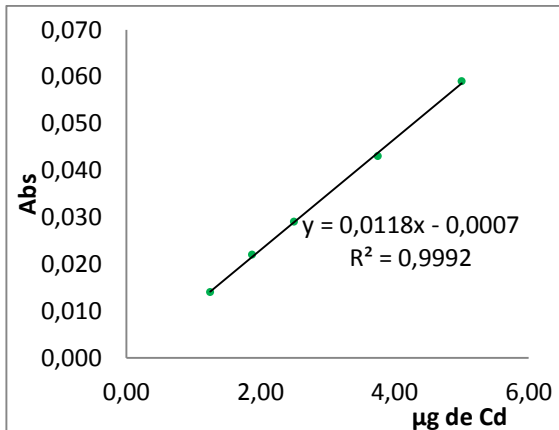
Día 3 – analista 1



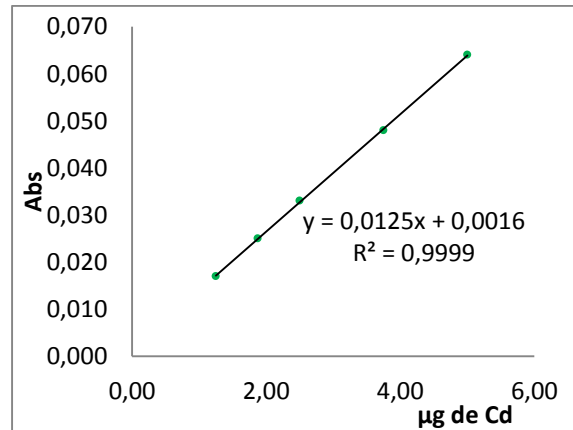
Día 4 – Analista 2



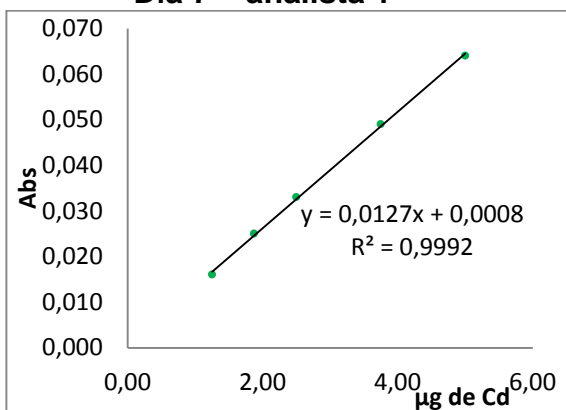
Día 5 – analista 1



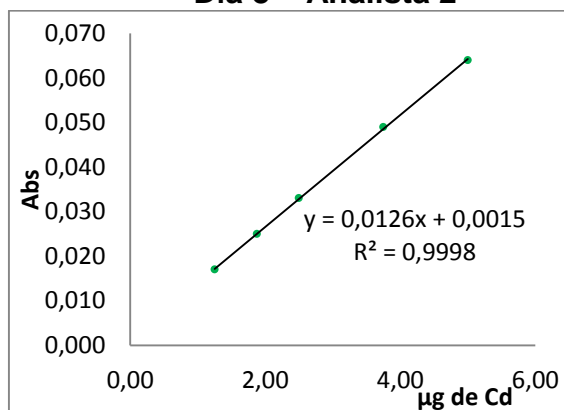
Día 6 – Analista 2



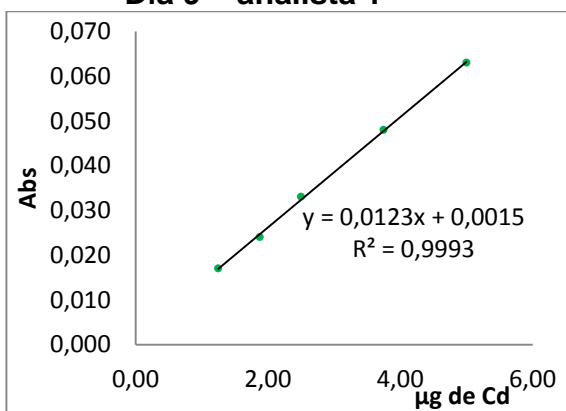
**Día 7 – analista 1**



**Día 8 – Analista 2**



**Día 9 – analista 1**



**Día 10 – Analista 2**

