



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**

**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN**

**ALIMENTOS**

**CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA**

Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del Título de Ingeniera Bioquímica, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

---

**“Determinación de cadmio y plomo por espectroscopía de absorción atómica con horno de grafito en pastos del cantón Quero afectados por las cenizas del volcán Tungurahua”**

---

**Autora:** Cinthia Estefania Romero Flores

**Tutora:** PhD. Dayana Cristina Morales Acosta

**AMBATO – ECUADOR**

**Junio 2017**

## **APROBACIÓN DEL TUTOR**

**Dra. Dayana Cristina Morales Acosta**

### **CERTIFICA:**

Que el presente Trabajo de Titulación modalidad Proyecto de Investigación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto autorizo la presentación de este Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad.



.....  
Dra. Dayana Cristina Morales Acosta

C.I: 180413557-0

**TUTORA**

Ambato, 26 de abril del 2017

## **DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD**

Yo, Cinthia Estefania Romero Flores, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Proyecto de Investigación, previo la obtención del título de Ingeniera Bioquímica son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas.



A handwritten signature in blue ink, consisting of several overlapping loops and lines. The name 'Cinthia Estefania Romero Flores' is faintly visible within the signature. Below the signature is a horizontal dotted line.

Srta. Cinthia Estefania Romero Flores

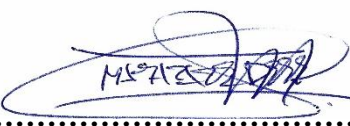
C.I. 070651399-1

**AUTORA**

## **APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL DE GRADO**

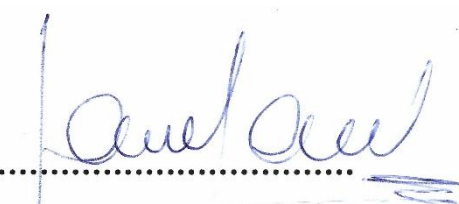
Los suscritos profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:



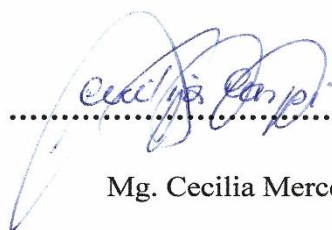
.....

Presidente del Tribunal



.....

Mg. Lander Vinicio Pérez Aldáz  
C.I. 180270659-6



.....

Mg. Cecilia Mercedes Carpio  
C.I. 170462765-0

Ambato, 01 de junio del 2017

## **DERECHOS DE AUTOR**

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Proyecto de Investigación o parte de él, un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Proyecto, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este Proyecto dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.

A handwritten signature in blue ink, consisting of several loops and strokes. The name 'Cinthia Estefania Romero Flores' is written in a cursive style across the signature.

Cinthia Estefania Romero Flores

C.I. 070651399-1

**AUTORA**

**DEDICATORIA**

**PARA MI MADRE ROSA Y MI  
ABUELA YOLANDA POR  
CUIDAR DE MI INTEGRIDAD Y  
FORJAR MIS VALORES.**

**LAS AMO.**

**CINTHIA**

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios, el ser único e incomparable que día a día me regala su bendición y protección, a mi madre Rosa Flores, gracias por el amor sobre todo por confiar en mí por darme ánimo todos los días y velar cada noche por mi bienestar; a mi padre Hugo Romero gracias por ser el forjador de mi personalidad. Todo lo que soy lo he logrado gracias al amor que he recibido de ustedes.

A mi hermana María Fernanda Gonzales y mis pequeños hermanos Isaac y Daniela Romero por todo este tiempo de vivencias y anécdotas que hemos compartido, a mis abuelos paternos Yolanda Bonilla y Hugo Romero y maternos María Zhigue y Celso Flores, gracias por haberme cuidado como a una hija cuando niña, jamás olvidaré los detalles que me hicieron apreciar la vida de otra manera, gracias por ser el eje de felicidad en el hogar.

A Erick Paúl Moreira, gracias por el amor incondicional durante tantos años, por todos los momentos únicos vividos juntos y por ser mi mejor amigo, eres el motor de mi vida que me hace crecer cada día y con quien comparto la mayor felicidad de ser padres, el cuidar y proteger a nuestra pequeña Isabella Victoria, el motivo de mis mejores sonrisas.

A todos mis seres queridos, familia y amigos.

Al Ingeniero Mario Álvarez e Ingeniera Mónica Silva gracias por haber confiado en mis capacidades y haberme extendido su amistad como referente de apoyo en todo este tiempo, sobre todo por permitirme trabajar en el proyecto de Canje de Deuda como tesista becaria.

A la Doctora Dayanna Morales por haberme extendido su ayuda de amistad e intelectual en épocas difíciles, por brindarme sus conocimientos y tiempo de calidad en la realización del proyecto.

A la Universidad Técnica de Ambato, Facultad.

## ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

<b>Contenido</b>	
<b>APROBACIÓN DEL TUTOR</b> .....	ii
<b>DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD</b> .....	iii
<b>APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL DE GRADO</b> .....	iv
<b>DERECHOS DE AUTOR</b> .....	v
<b>DEDICATORIA</b> .....	vi
<b>AGRADECIMIENTO</b> .....	vii
<b>RESUMEN</b> .....	xiii
<b>ABSTRACT</b> .....	xiv
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>CAPÍTULO I</b> .....	3
<b>EL PROBLEMA</b> .....	3
<b>1.1 Tema de la investigación</b> .....	3
<b>1.2 Justificación</b> .....	3
<b>1.3. Objetivos</b> .....	5
<b>1.3.1. Objetivo general</b> .....	5
<b>1.3.2. Objetivos específicos</b> .....	5
<b>CAPÍTULO II</b> .....	6
<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	6
<b>2.1. Antecedentes investigativos</b> .....	6
<b>2.2.1 Hipótesis nula</b> .....	9
<b>2.2.2 Hipótesis alternativa</b> .....	9
<b>2.3. Señalamiento de variables de la hipótesis</b> .....	9
<b>2.3.1 Variable independiente</b> .....	9
<b>2.3.2 Variable dependiente</b> .....	9
<b>CAPÍTULO III</b> .....	10



<b>MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>10</b>
<b>3.1 Materiales .....</b>	<b>10</b>
<b>3.2 Métodos.....</b>	<b>10</b>
<b>3.2.1 Recolección de muestra.....</b>	<b>10</b>
<b>3.2.2 Medición de parámetros físico-químicos.....</b>	<b>11</b>
<b>3.2.3 Pretratamiento de las muestras .....</b>	<b>11</b>
<b>3.2.4 Preparación de la Muestras.....</b>	<b>12</b>
<b>3.2.5 Curva de Calibración.....</b>	<b>13</b>
<b>3.2.6 Análisis de Cadmio y Plomo.....</b>	<b>13</b>
<b>CAPÍTULO IV.....</b>	<b>15</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>15</b>
<b>4.1. Análisis y discusión de los resultados.....</b>	<b>15</b>
<b>4.1.1 Medición de parámetros físico-químicos de Pastos.....</b>	<b>15</b>
<b>4.1.2 Curva de Calibrado.....</b>	<b>16</b>
<b>4.1.3 Análisis de Metales Pesados .....</b>	<b>18</b>
<b>4.1.3.1 Análisis de plomo (Pb) en pastos.....</b>	<b>18</b>
<b>4.1.3.2 Análisis de cadmio (Cd) en pastos .....</b>	<b>19</b>
<b>4.1.3.3 Análisis de plomo (Pb) y cadmio (Cd) en otras matrices (suelo, agua y             leche).....</b>	<b>21</b>
<b>4.1.3 Análisis Estadístico de datos .....</b>	<b>22</b>
<b>4.2 Verificación de las hipótesis .....</b>	<b>32</b>
<b>CAPÍTULO V .....</b>	<b>33</b>
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>33</b>
<b>5.1. Conclusiones.....</b>	<b>33</b>
<b>5.2. Recomendaciones .....</b>	<b>34</b>
<b>MATERIALES DE REFERENCIA .....</b>	<b>35</b>
<b>Referencias Bibliográficas.....</b>	<b>35</b>

<b>Anexos</b> .....	39
<b>a) Condiciones del equipo de absorción atómica con horno de grafito</b> .....	40
<b>b) Datos Obtenidos</b> .....	41
<b>c) Análisis estadístico de datos</b> .....	44
<b>d) Diagrama de Flujo del proceso de obtención de muestras en el cantón</b> <b>Quero.</b> .....	52

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1. Parámetros Físico-Químico de las muestras de pastos recolectadas en los sectores de Hualcanga de Santa Anita y Guanto - cantón Quero.....</b>	<b>15</b>
<b>Tabla 2. Parámetros Físico-Químico de las muestras de suelo, agua y leche recolectadas en el sector de Guanto y Hualcanga de Santa Anita - cantón Quero .....</b>	<b>16</b>
<b>Tabla 3. Concentración de plomo en pastos de los sectores del cantón Quero .....</b>	<b>18</b>
<b>Tabla 4. Concentración de cadmio en pastos de los sectores del cantón Quero .....</b>	<b>20</b>
<b>Tabla 5. Concentración de Pb y Cd en suelo, agua y leche de los sectores analizados del cantón Quero .....</b>	<b>21</b>
<b>Tabla 6. Análisis de Varianza para concentración de plomo - Suma de Cuadrados Tipo III. ....</b>	<b>23</b>
<b>Tabla 7. Análisis de Varianza para concentración de plomo - Suma de Cuadrados Tipo III - Interacción .....</b>	<b>24</b>
<b>Tabla 8. Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD .....</b>	<b>25</b>
<b>Tabla 9. Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD .....</b>	<b>26</b>
<b>Tabla 10. Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD .....</b>	<b>27</b>
<b>Tabla 11. Análisis de Varianza para concentración de cadmio - Suma de Cuadrados Tipo III .....</b>	<b>28</b>
<b>Tabla 12. Análisis de Varianza para concentración de cadmio - Suma de Cuadrados Tipo III - Interacciones .....</b>	<b>29</b>
<b>Tabla 13. Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD .....</b>	<b>30</b>
<b>Tabla 14. Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD .....</b>	<b>31</b>
<b>Tabla 15. Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD .....</b>	<b>32</b>

<b>Tabla 16. Condiciones Instrumentales para la lectura de plomo y cadmio en el equipo de absorción atómica .....</b>	<b>40</b>
<b>Tabla 17. Parámetros para el análisis. Horno de grafito – programa de calor del horno - Cadmio.....</b>	<b>40</b>
<b>Tabla 18. Parámetros para el análisis. Horno de grafito – programa de calor del horno - Plomo .....</b>	<b>41</b>
<b>Tabla 19. Absorbancia, Desviación estándar y coeficiente de variación de plomo para la obtención de la curva de calibración. ....</b>	<b>41</b>
<b>Tabla 20. Absorbancia, Desviación estándar y coeficiente de variación de cadmio para la obtención de la curva de calibración. ....</b>	<b>42</b>
<b>Tabla 21. Medición de la concentración de plomo en forrajes de distintos sectores del cantón Quero .....</b>	<b>42</b>
<b>Tabla 22. Medición de la concentración de cadmio en forrajes de distintos sectores del cantón Quero .....</b>	<b>43</b>
<b>Tabla 23. Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para Concentración de PLOMO con intervalos de confianza del 95,0% .....</b>	<b>44</b>
<b>Tabla 24. Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para concentración de cadmio con intervalos de confianza del 95,0% .....</b>	<b>48</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1 Curva de calibración para plomo, obtenida mediante el método de patrón externo .....</b>	<b>17</b>
<b>Figura 2 Curva de calibración para cadmio, obtenida mediante el método de patrón externo .....</b>	<b>17</b>

## RESUMEN

Los diferentes periodos de activación del proceso eruptivo del volcán Tungurahua, han afectado a diversas localidades de la provincia, no solo a la producción agrícola de los pequeños productores, sino además a la salud de los pobladores de la zona.

En este sentido, el presente proyecto de investigación tuvo por objeto el estudio de la presencia de cadmio y plomo, elementos químicos de naturaleza tóxica para el ser humano, que además producen contaminación ambiental, productos de la ceniza volcánica. El estudio se llevó a cabo en los sectores de Guanto y Hualcanga de Santa Anita del cantón Quero, y la determinación se realizó en tres diferentes pastos (vicia, alfalfa y pasto azul) que se cultivan de forma tradicional en los sectores antes mencionados.

El análisis de metales en los pastos indica que existe la presencia de plomo y cadmio, sin embargo, la mayoría de los valores obtenidos se encuentra dentro de los límites definidos en la norma de la Unión Europea (2017) que establece valores de 0,20 mg de plomo/kg y de 0,10 mg de cadmio/kg peso fresco en hortalizas.

El análisis estadístico para evaluar los distintos tratamientos se realizó por medio del estudio de varianza (ANOVA), y se aplicó la prueba de Tukey, con un nivel de confianza de 95% para determinar si las medias difieren significativamente entre sí. El programa estadístico utilizado fue Statgraphics, el cual nos permitió determinar que sí existe diferencia significativa entre los sectores de Guanto y Hualcanga de Santa Anita, entre los forrajes) y para el tratamiento aplicado (lavado y sin lavar), mientras que las mediciones realizadas por quintuplicado para ambos metales (cadmio y plomo) no difieren entre sí.

**PALABRAS CLAVES:** cadmio, plomo, espectrometría de absorción atómica, forrajes, volcán Tungurahua, contaminación ambiental

## ABSTRACT

The different periods of activation of the eruptive process of Tungurahua volcano have affected several localities of the province, not only in the agricultural production of the small producers, but also to the health of the inhabitants of the zone.

In this sense, the present research project aimed at the study of the presence of toxic elements (cadmium and lead), products of volcanic ash, which produce environmental contamination and adverse effects in the human being. This study was carried out in the Guanto and Hualcanga sectors of Santa Anita in the Quero canton, and the determination was made in three different pastures (vice, alfalfa and bluegrass) that are traditionally grown in the Sectors.

The analysis of metals in the grasses indicates that there is presence of lead and cadmium, however, most of the values obtained are within the limits defined by the norm of the European Union (2017) that establishes values of 0.20 mg of lead / kg and 0.10 mg of cadmium/ kg fresh weight in vegetables.

Statistical analysis was performed by means of the study of variance (ANOVA) to evaluate the different treatments, and to observe if they differ significantly each other in terms of their means, the Tukey test was applied, with a level of confidence of 95% and a level of significance of 5%. The statistical program used was Statgraphics, which allowed us to determine if there is significant difference between the sectors of Guanto and Hualcanga of Santa Anita, forages and applied treatment (washing and not washing), while measurements made in quintuplicate for both metals (cadmium and lead) do not differ from each other.

**KEYWORDS:** cadmium, lead, atomic absorption spectrometry, fodder, volcano Tungurahua, environmental pollution.

## INTRODUCCIÓN

El efecto de la ceniza volcánica sobre los pastos y rumiantes que pastorean praderas contaminadas, depende de dos factores: la cantidad de ceniza caída y la composición química de la misma. El daño en las plantas es esencialmente físico, al obstruir el área foliar **(Polo, 2009)**.

Tanto los vegetales (parte importante de la dieta humana) como los pastos (importantes en la dieta animal), contienen nutrimentos esenciales, como vitaminas, minerales y fibra. Algunos de estos son absorbidos por la planta, desde el suelo hacia sus frutos, hojas, flores y tallo, en forma de disoluciones. Estas disoluciones se encuentran conformadas por todo tipo de elementos y compuestos, entre ellos algunos elementos tóxicos que pueden ser perjudiciales al desencadenar efectos colaterales a largo plazo tanto en la planta, como en el ser humano al entrar en la cadena alimenticia **(Turcios, 2010)**. Es por esto que el estudio de los metales pesados, cuya densidad específica es superior a los 5 g/cm<sup>3</sup>, es de gran interés desde varios puntos de vista, ya que son contaminantes medioambientales cuya toxicidad representa un problema creciente a nivel ecológico, evolutivo, nutricional y medioambiental **(Jaishankar, Tseten, Anbalagan, Mathew, & Beeregowda, 2014)**.

La entrada de metales pesados en las plantas es esencialmente producida a través de la raíz, por la absorción de estos elementos del suelo. Tal absorción se produce como efecto del gradiente de potencial electroquímico de la membrana del plasma en las células de las raíces de las plantas, lo cual conduce al cadmio y otros cationes al interior de dichas células. Sin embargo, se conoce que diversas reacciones bioquímicas ocurren en las plantas estresadas por metales pesados, la mayoría producidas por el desplazamiento de los centros catiónicos de las proteínas o por el incremento de especies oxígeno reactivas. El plomo por el contrario se une a grupos carboxílicos de los ácidos urónicos del mucílago en las superficies de la raíz, pero aún no se conoce cómo este elemento entra en el tejido de la raíz ya que las plantas no tienen canales específicos para la toma de este metal **(Peralta-Videa, Lopez, Narayan, Saupe, & Gardea-Torresdey, 2009)**.

El plomo es un metal altamente tóxico, de densidad relativa 11,4 g/cm<sup>3</sup> a 16 °C, y ligeramente azulado en una atmósfera seca. Es flexible, inelástico y se funde con

facilidad. Es relativamente resistente al ataque de ácido sulfúrico y ácido clorhídrico, aunque se disuelve con lentitud en ácido nítrico y ante la presencia de bases nitrogenadas (**Turcios, 2010**). Por otra parte el cadmio es un metal que no tiene utilidad biológica conocida, pero es altamente tóxico a concentraciones relativamente bajas (**A. Garnier-Suillerot, 1997**). El cadmio es un elemento pesado, blanco azulado, dúctil y maleable. En la Primera Guerra Mundial fue usado por primera vez como un sustituto del estaño y como pigmento en industrias de pinturas (**Jaishankar, Tseten, Anbalagan, Mathew, & Beeregowda, 2014**).

Elementos tóxicos, como los antes mencionados, suelen ser analizados por espectrometría de absorción atómica, la cual abarca un conjunto de técnicas basadas en la emisión, absorción y fluorescencia de la radiación producida por el vapor atómico (**Menéndez, 1997**). El estudio espectroscópico de átomos o de iones elementales con radiación Ultravioleta-Visible sólo se puede hacer en fase gaseosa, que es donde los átomos o iones se encuentran separados entre sí. Por eso el primer paso en todos los procesos espectroscópicos atómicos es la atomización, un proceso por el cual una muestra se volatiliza y descompone de forma que produce un gas atómico (**Turcios, 2010**). Para ello es preciso la destrucción previa de la materia orgánica a través de procesos digestivos, ya sea por vía húmeda (mediante el uso de ácidos inorgánicos fuertes) o por vía seca (mediante la incineración de la muestra). Convirtiéndose así el metal asociado a las partículas en una forma libre cuya concentración pueda determinarse por espectrometría de absorción atómica con horno de grafito (**APHA, AWWA, 1992**),



# CAPÍTULO I

## EL PROBLEMA

### 1.1 Tema de la investigación

“DETERMINACIÓN DE CADMIO Y PLOMO POR ESPECTROSCOPÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA CON HORNO DE GRAFITO EN PASTOS DEL CANTÓN QUERO AFECTADOS POR LAS CENIZAS DEL VOLCÁN TUNGURAHUA”

### 1.2 Justificación

El volcán Tungurahua de aproximadamente 5.023 metros de altura, se encuentra localizado en la Cordillera de los Andes. Su reactivación comenzó en 1999 y se mantiene hasta actuales fechas, teniendo episodios violentos el 16 de agosto del 2006, 28 de mayo del 2008, 26 de abril del 2010, 20 de agosto del 2012, y el 1 de febrero del 2014. Las erupciones del volcán Tungurahua de tipo estromboliano (que producen andesita y dacita) se han originado en el cráter de la cumbre y han ido acompañadas de fuertes explosiones, flujos piroclásticos y, a veces, flujos de lava (**Polo, 2009**).

La constante actividad del volcán Tungurahua ha provocado una importante emisión de ceniza, que con el tiempo ha modificado el mapa epidemiológico de la población circundante. Varios han sido los cantones afectados por la ceniza volcánica, entre ellos: el cantón Mocha; y el cantón Quero, en donde los productores agropecuarios han sido quizá los más afectados por la destrucción y pérdida de su producción (**Gobierno Autónomo y Descentralizado Cantón Quero, 2015**).

La ceniza emanada por el volcán Tungurahua constituye una fuente natural de metales pesados, al contener una alta concentración de estos elementos, los suelos con restos de ceniza pueden verse contaminados con elevados niveles de cadmio y plomo, constituyéndose en un importante medio de retención, acumulación y transformación. Los metales pesados en suelos, pueden causar efectos tóxicos a las plantas o bien acumularse en ellas y, de esta manera, entrar en la cadena alimenticia del hombre (**Polo, 2009**). La presencia de elementos tóxicos en alimentos, puede provocar patologías en las personas que los ingieren, causando en algunas ocasiones la muerte (**Rubio, 2005**).

Existe mucha información de la bioacumulabilidad de metales pesados sobretodo en plantas, las cuales los absorben del medio ambiente (suelo, aire, agua) vía raíces o vía foliar. Las plantas más expuestas indudablemente son las que poseen un área foliar muy amplia y aquellas de tallo corto, tal es el caso de los pastos, los cuales no alcanzan ni el metro de altura y son destinados para el consumo de los animales, en especial del ganado vacuno (**Bensoain, Ruíz, & Hepp, 1995**).

Dada la probabilidad del ingreso de dichos metales tóxicos en la cadena alimenticia, es importante considerar los límites permisibles de los elementos en alimentos de consumo humano y pastos de consumo animal. Es así que **la Unión Europea, 2017**, indica que el contenido máximo de metales pesados es de 0,20 mgPb/kg peso fresco (plomo) y de 0,10 mg Cd/kg peso fresco (cadmio) en hortalizas, cultivos y vegetales.

Por otra parte, debe considerarse que los metales (elementos traça) presentes en el suelo son el resultado de diferentes aportaciones, tales como: fertilizantes, deposición atmosférica, erupciones volcánicas y erosión natural de rocas, y que éstos pueden ser absorbidos por la vegetación y luego por los rumiantes durante el pastoreo, debido a la ingesta de parte del suelo adherido a las plantas y que generalmente contiene más concentración de estos metales (**Samuel Maas et al, 2011**). Consecuentemente, el suelo contaminado puede ser un riesgo debido a su ingesta directa, a su incorporación a las cosechas, o a su entrada directa a los hogares a través de los alimentos, por lo que también existen límites máximos permisibles para suelos contaminados (**Semarnat/SSA1, 2007**). Para uso agrícola se tiene valores de 60 mgPb/kg (plomo) y 2,0 mgCd/kg (cadmio) (**TULSMA & Constitución de la República, 2015**).

Toda esta contaminación podría relacionarse con la posible presencia y acumulación de metales pesados en la leche, uno de los alimentos de consumo diario en el país. En efecto, dentro de las rutas de excreción de dichos elementos se encuentra la leche (**Maas, Lucot, Gimbert, Crini, & Badot, 2011**).

El **Reglamento (CE) 466, 2001** de la Comisión de 8 de marzo de 2001 fijó el contenido máximo de plomo en algunos productos alimenticios, como leche de vaca: 0,02 mg de plomo/kg de peso fresco y de 0,010 mg de cadmio/kg de peso fresco.

Por esta razón, la presente investigación tiene como objetivo la determinación del contenido de plomo y cadmio en los pastos cultivados en dos zonas afectadas por las

cenizas del volcán Tungurahua y su correspondiente comparación con los límites máximos permisibles indicados por la legislación vigente con la finalidad de determinar la presencia o no de riesgo para los animales e indirectamente para el ser humano, realizando como un estudio complementario la determinación de cadmio y plomo en suelo, agua y leche.

### **1.3. Objetivos**

#### **1.3.1. Objetivo general**

Determinar cuantitativamente las concentraciones de cadmio y plomo en pastos de los sectores Guanto y Hualcanga de Santa Anita afectados por la ceniza del volcán Tungurahua.

#### **1.3.2. Objetivos específicos**

- Elaborar curvas de calibrado mediante el uso de patrones externos, para la determinación de la concentración de cadmio y plomo por el método de absorción atómica con horno de grafito.
- Establecer el tratamiento adecuado para las muestras, con la finalidad de reducir al máximo el efecto de la matriz e interferencias en el análisis.
- Determinar la concentración de cadmio presente en alfalfa, vicea y pasto azul.
- Analizar la concentración de plomo presente en alfalfa, vicea y pasto azul.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1. Antecedentes investigativos

La contaminación ambiental es uno de los principales problemas de la humanidad hoy en día, y son los desarrollos científicos los que facilitan nuestra vida al aumentar nuestros estándares. La contaminación de nuestro medio ambiente y sistema ecológico nos está amenazando, por medio del efecto invernadero, el ozono entero, etc., y ciertamente la contaminación por metales pesados especialmente cerca de regiones de minas metálicas, volcanes, y fábricas (**A. Garnier-Suillerot, 1997**).

Varios son los estudios reportados en la literatura en relación a la determinación de metales pesados en diversas matrices como productos alimenticios, agua, suelos, leche entre otros.

En el estudio realizado por **Aghamohammadi, Faraji, & Shahdousti, 2015**, se monitorearon las contaminaciones de plomo, cromo y cadmio en medicamentos a base de hierbas, mediante microextracción con emulsión asistida por ultrasonido (USAEME) combinada con espectrometría de absorción atómica con horno de grafito (GF-AAS). Los valores del rango dinámico lineal (LDR) reportados fueron de 0,05 a 20µg/L y los límites de los valores de detección encontrados fueron de 0,002-0,03µg/L para los metales pesados bajo estudio. El método USAEME con GF-AAS demostró ser un método eficiente, rápido, barato y ecológico para la determinación de plomo, cromo y cadmio en las muestras. A base de este estudio se recomienda que se evalúe las plantas y todo tipo de vegetación en busca de la presencia de metales pesados, por lo que es necesario una técnica de concentración y separación para trazas de metales pesados de la matriz vegetal para aumentar la sensibilidad y precisión de su determinación.

En un estudio realizado por **Bakkali, Ballesteros, Souhail, & Ramos Martos (2009)**, en el Departamento de Química Física y Analítica. Facultad de Ciencias Experimentales en la Universidad de Abdelmalek Essaadi, Tetuán, Marruecos, determinan las trazas metálicas en aceites vegetales de España y Marruecos mediante espectroscopía de absorción con cámara de grafito después de la digestión en horno de microondas. En el presente trabajo se propone un método simple y rápido de análisis para la determinación

de trazas metálicas (Cd, Cr, Cu, Mn y Pb) en diferentes tipos de aceites vegetales. El procedimiento consiste en el tratamiento previo de la muestra mediante digestión con horno de microondas y en el análisis mediante espectroscopía de absorción atómica con atomización electrotérmica. El método ofrece una buena linealidad y sensibilidad para los cinco metales determinados, con límites de detección comprendidos entre 0,06-2,15  $\mu\text{g/kg}$ . La precisión del método expresada como desviación estándar relativa oscila entre 2,6 y 4,2 %. Para el estudio de la exactitud se analizó un aceite de referencia (Used Oil HU-1) con las concentraciones de metales certificadas, obteniéndose unos resultados satisfactorios. La metodología desarrollada se aplicó a la determinación de metales en diferentes tipos de aceite vegetales (oliva virgen, oliva, girasol, maíz y orujo) de distinta procedencia (España y Marruecos). Los resultados obtenidos han puesto de manifiesto que el contenido de metales depende del aceite analizado, y en el caso del aceite de oliva varía dependiendo del país de procedencia, obteniéndose unos valores elevados para el plomo en las muestras producidas en Marruecos.

El estudio de metales pesados en suelo es muy importante, es por esto que se ha ejecutado un análisis en la ciudad de Cuenca – Ecuador (**Tello, 2015**), donde se evaluó el riesgo toxicológico de plomo y cadmio en suelos del entorno del parque industrial de dicha ciudad, para ello se determinó las concentraciones de estos contaminantes en muestras de suelo recolectadas, las determinaciones fueron por triplicado, el método aplicado fue por digestión ácida y absorción atómica, los valores promedio de plomo y cadmio obtenidos fueron comparados con la Norma de calidad Ambiental de Ecuador con normativas internacionales como la EPA (Agencia de protección ambiental de Estados Unidos), observándose diferencia significativa únicamente con respecto a las concentraciones admitidas según la Norma de calidad Ambiental del Ecuador, también se evaluó el riesgo toxicológico de varios parámetros como la dosis de exposición, tasa de ingesta diaria admisible, riesgo cancerígeno donde los valores indican riesgo mínimo para la población.

En la Universidad de Zulia, Venezuela, se determinó el análisis comparativo de dos técnicas de digestión para la determinación de metales pesados en lodos residuales ya que uno de los factores que más ha restringido el uso agrícola de lodos residuales es su contenido en metales pesados. En este sentido, se llevó a cabo el análisis de muestras compuestas de lodos residuales provenientes del Tratamiento de Aguas Servidas correspondientes a dos periodos diferentes de muestreo, con el objeto de evaluar el

contenido de metales pesados a través de diferentes técnicas de digestión. El análisis de varianza aplicado a las concentraciones indicó diferencias significativas a un  $p=0,05$  no sólo entre las técnicas sino también entre las soluciones digestoras. Las concentraciones más altas de los metales estudiados se obtuvieron a través de la técnica de digestión cerrada. Al comparar los valores obtenidos, en el caso de los metales considerados potencialmente tóxicos, con respecto a las concentraciones límites establecidas por las normas de la Comunidad Europea y la Agencia de Protección Ambiental Norteamericana (EPA), se observó que las mismas no superan tales valores reglamentarios por lo que se infiere que es posible su utilización con fines agrícolas (**García, Zauahre, Morán, Acosta & Senior, 2006**).

Finalmente, se realizó estudios en otras matrices a nivel local, en las parroquias: Guanando y La Providencia del cantón Guano de la Provincia de Chimborazo y un estudio toxicológico de las fuentes de abastecimiento de agua, por la posible presencia de metales pesados como arsénico y cadmio al encontrarse estos poblados cerca del Volcán Tungurahua . Se realizó la identificación de estas fuentes y se obtuvo las muestras de agua para su correspondiente análisis, en donde se identificaron los analitos de interés (arsénico y cadmio). Para el análisis de datos se aplicó una estadística descriptiva (media y varianza) y éstos fueron comparados con los niveles permisibles dados por las normativas ecuatorianas vigentes TULSMA Libro VI, anexo I, Norma NTE – INEN 2011, y con normas internacionales, llegando a la conclusión de que tanto la concentración de arsénico, como cadmio se encuentran dentro de los niveles permisibles dados por estas normas (**Lozano, 2014**). La mayor incidencia de plomo en aguas ecuatorianas se da en regiones donde se encuentran industrias mineras, como es el caso de las provincias de EL Oro, Loja y Zamora Chinchipe. Los ríos de estas regiones presentan altas cantidades de plomo, debido principalmente a que las industrias mineras depositan las colas de cianuros en las micro cuencas de dichas regiones; otras regiones incidentes son las afectadas por la ceniza de los majestuosos volcanes que las rodean ya que los valles y praderas son afectados por una variedad de metales contenidos en la composición de la ceniza (**Garzón, 2006**).

Y para la matriz de leche se ha realizado un estudio (**Matus Medina, Guillen Paredes, Meléndez Calderon & Castillo Ruiz, 2013**) donde determinan la concentración de plomo en leche de ganado bovino en el cantón Sitio del Niño, Municipio de San Juan Opico, Departamento de La Libertad, El Salvador, en el cual se comprobó la presencia

de plomo en leche de ganado bovino y en agua. La presencia de plomo en la leche y el agua fue de un 94,44% y 66,66% del total de las muestras analizadas respectivamente. Los niveles de plomo en las muestras de leche demuestran que la ganadería 1, presenta los niveles más altos conteniendo hasta 2,254 mg/litro de plomo y la ganadería 4 presentó valores de 0,820mg/litro, por lo que se aprecia que existen niveles de plomo en leche con valores no permitidos en los sitios dentro y fuera del radio de contaminación. Los altos niveles de plomo en el agua recolectada dentro y fuera del radio de contaminación, han afectado el manto freático encontrando hasta 7,16mg/L de agua a 33 metros de profundidad.

## **2.2 Hipótesis**

### **2.2.1 Hipótesis nula**

La alfalfa, vicia y pasto azul de los sectores de Guanto y Hualcanga de Santa Anita del cantón Quero no contienen metales pesados, por efecto de la ceniza del volcán Tungurahua.

### **2.2.2 Hipótesis alternativa**

La alfalfa, vicia y pasto azul de los sectores de Guanto y Hualcanga de Santa Anita del cantón Quero si contienen metales pesados, por efecto de la ceniza del volcán Tungurahua.

## **2.3. Señalamiento de variables de la hipótesis**

### **2.3.1 Variable independiente**

Alfalfa, vicia y pasto azul

### **2.3.2 Variable dependiente**

Contenido de plomo y cadmio en mg/kg de materia seca

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Materiales

##### Muestras

Alfalfa (*Medicago sativa*), vicea (*Vicea sativa*) y pasto azul (*Poa pratensis*).

##### Materiales de laboratorio

Materiales de vidrio, plástico, protección personal.

##### Reactivos

Estándar de plomo (PG INSTRUMENTS lead AAS standard solution 1000 ppm Pb in 0.5M HNO<sub>3</sub>), estándar de cadmio (PG INSTRUMENTS cadmium AAS standard solution 1000ppm Pb in 0.5M HNO<sub>3</sub>), ácido clorhídrico grado analítico (FISHER SCIENTIFIC 36.2%), ácido nítrico grado analítico (FISHER CHEMICAL, 68-70% w/w), gas argón (UAP grado 5.0), agua ultrapura.

##### Equipos de laboratorio

Equipo de absorción atómica con horno de grafito y lámparas para detección de minerales (PG-INSTRUMENT – AA500), mufla (NABER THERM), estufa (BINDER – ED400), balanza infrarroja para humedad (METTLER – HX204), molino universal de laboratorio (IKA WORKS – M20), balanza analítica (METTLER – XPE204), liofilizador (LABCONCO – FREEZONE4.5), potenciómetro (METTLER TOLEDO – SEVENCOMPACT S220), cámara de extracción de gases y humos tóxicos (NOVATECH – CE120BA).

#### 3.2 Métodos

##### 3.2.1 Recolección de muestra

Las muestras de vicea, pasto azul y alfalfa fueron recolectadas en las comunidades de Guanto y Hualcanga de Santa Anita del cantón Quero (latitud: -1,36667 y longitud: -78,6) Provincia de Tungurahua. El muestreo se realizó en forma aleatoria simple donde



tres lugares en el pastizal fueron seleccionados al azar a una distancia de 5 metros aproximadamente. Los lugares seleccionados fueron excavados de 10-15 cm de profundidad para el suelo y se cortó de 5-10 cm de altura para los pastos, se recolectó aproximadamente 30 gramos de cada muestra y se almacenó en bolsas de polietileno limpias y adecuadamente etiquetadas. El muestreo de forraje, suelo, leche y agua se realizó durante tres meses consecutivos (Mayo, Junio, y Julio del 2016).

Las muestras de agua (50 mL) fueron tomadas de fuentes naturales que llegan a los diferentes hogares y son utilizadas para regadío. La leche (50 mL) fue obtenida de los centros de acopio de los sectores analizados. Las muestras se colocaron en frascos de plásticos limpios y adecuados para la recolección. Esta actividad fue desarrollada como parte complementaria del proyecto de investigación.

Todas las muestras fueron llevadas al laboratorio de Análisis Instrumental (UODIDE – ICIA, Proyecto Canje de Deuda) y almacenadas adecuadamente hasta el respectivo análisis de plomo y cadmio.

### **3.2.2 Medición de parámetros físico-químicos**

En las muestras frescas de pastos, suelo y leche se analizó el porcentaje de humedad utilizando una balanza con infrarrojo METTLER TOLEDO HX 204 MOISTURE ANALYZER. Para ello se colocó en el equipo un gramo de muestra con condición de trabajo de 150 °C y con criterio de secado 1 mg/50 segundos.

Para la medición de pH en muestras de suelo, se mezcló un gramo de muestra con 10 ml de agua destilada, se agitó y se dejó reposar por 10 minutos según el método reportado por **Khan, Ahmad, Bayat & Mukhtar (2013)**. La medida se realizó con un potenciómetro (METTLER TOLEDO – SEVENCOMPACT S220). Con respecto al agua y la leche se midió el valor de pH directamente en 50 ml de muestra.

### **3.2.3 Pretratamiento de las muestras**

Los pastos recibieron dos diferentes pre-tratamientos: (a) los pastos sin lavar fueron cortados en un tamaño de 1 cm y luego llevados a una estufa (BINDER – ED400) por un lapso de 24 horas, a una temperatura de 60°C. (b) otra parte de las muestras fueron lavadas minuciosamente con agua destilada y desmineralizada, para eliminar el suelo adherido y se siguió el mismo procedimiento detallado anteriormente.

Las muestras secas fueron llevadas a un molino IKA-WERKE M20S003 con la finalidad de disminuir el tamaño de partícula y obtener muestras más homogéneas las cuales fueron almacenadas en fundas estériles para su posterior análisis.

Las muestras de leche fueron congeladas a  $-80^{\circ}\text{C}$  para su posterior liofilización utilizando un equipo liofilizador (LABCONCO – FREEZONE4.5) y se procedió con la metodología con modificaciones de **Rodríguez, Delgado & Díaz (1999)** para la digestión de la muestra.

### **3.2.4 Preparación de las muestras**

Para el análisis de cadmio y plomo se pesó un gramo de pastos y se utilizó el procedimiento indicado por **Ramezani, Aghel, Shiralipour & Zadeh (2011)** con modificaciones en lo que respecta al peso de la muestra. Las muestras fueron sometidas a digestión por vía seca, para lo cual se llevó a incineración a una temperatura de  $550^{\circ}\text{C}$  usando una mufla (NABERTHERM, ALEMANIA) hasta que se obtuvo una ceniza blanca. A las cenizas obtenidas en los crisoles se añadió 0,50 mL de ácido clorhídrico y 0,25 mL de ácido nítrico ambos concentrados, se dejó en reposo por un lapso de 5 minutos, y después esta solución fue transvasada a balones de 25 mL aforándolos con agua purificada tipo I. Se tomó 2,5 mL de la solución preparada y se filtró a través de filtros de  $0,45\ \mu\text{m}$  (AGILENT CAPTIVA, ECONO FILTER). La solución filtrada fue colocada en viales, para su posterior inyección en el equipo de absorción atómica donde se tomó  $10\ \mu\text{L}$  de muestra con una micropipeta y se procedió a inyectar.

Con respecto al análisis de metales pesados en muestras de suelo, se realizó la digestión por vía seca, donde se pesó un gramo de muestra y se colocó en una plancha de calentamiento a  $150^{\circ}\text{C}$  por una hora. Luego se transfirió a una mufla a  $450^{\circ}\text{C}$  y después de 4 horas se retiró y se dejó enfriar. Se añadió 2 mL de ácido nítrico y 2 mL de ácido clorhídrico concentrado y se llevó a volumen con agua tipo I en balones de 25mL. La solución fue filtrada y transferida a viales para su respectiva medición de cadmio y plomo en el equipo de absorción atómica (**Rashid et al., 2016**).

Para el análisis de las muestras de agua, se siguió la metodología detallada por **Hadiani, Dezfooli-Manesh, Shoeibi, Ziarati & Mousavi Khaneghah (2015)**, donde 20 mL del

agua recolectada de los sectores del cantón Quero fue almacenada en viales para su respectiva acidificación con ácido nítrico (1mL/L), hasta alcanzar un pH menor a 2.

A partir de la leche liofilizada se pesó 1 gramo y se colocó en una mufla para la obtención de cenizas. Se agregó 1 mL de ácido nítrico y 15 mL de agua destilada donde se obtuvo la respectiva solución aforando en balones de 25 mL con agua tipo I (Maas et al., 2011).

### **3.2.5 Curva de Calibración**

Para obtener la curva de calibración de cadmio (Cd) y plomo (Pb), se utilizó patrones comerciales de 1.000 mg/L PGINSTRUMENT. Se preparó soluciones de estos metales en balones de 100 mL, aforando con HNO<sub>3</sub> al 1%, para obtener una concentración de 10.000 ng/mL para plomo y 100 ng/mL para cadmio. Estas soluciones de cadmio y plomo se rotularon como “solución madre”. De la solución madre se tomó diferentes alícuotas para preparar distintas concentraciones de cada metal, así:

Plomo: 0,00 – 25,00 – 50,00 – 75,00 – 100,00 y 125,00 ng/mL; Cadmio: 0,00 – 1,00 – 2,00 – 3,00 – 4,00 y 5,00 ng/mL; de acuerdo a especificaciones técnicas de sensibilidad del equipo, además se preparó un blanco de HNO<sub>3</sub> al 1%. Con las soluciones preparadas se procedió a su inyección en el espectrofotómetro de absorción atómica equipado con un atomizador de horno de grafito PG-INSTRUMENT – AA500 y se analizó con la respectiva lámpara para cada metal. Con los datos obtenidos se procedió a graficar las curvas de calibración y a obtener la correspondiente ecuación lineal.

### **3.2.6 Análisis de Cadmio y Plomo**

Con las muestras de pastos, leche, agua, y suelo obtenidas a partir de las cenizas previamente tratadas y filtradas se procedió a inyectar 10 µL y se midió la absorbancia de cadmio y plomo en forma separada con el equipo de absorción atómica con horno de grafito, las mediciones se realizaron por quintuplicado expresándose el promedio de 3 inyecciones para cada una.

## **3.3 Análisis Estadístico**

Las muestras fueron recolectadas en base a un muestreo aleatorio simple, se empleó la media aritmética y desviación estándar para el análisis de cadmio y plomo en los tres diferentes pastos.

En el diseño experimental se utilizó el Análisis de Varianza (ANOVA) para el diseño A\*B\*C con 5 réplicas, estableciendo si existen diferencias significativas en los tratamientos con una probabilidad  $P < 0,05$ . Se aplicó la prueba de Tukey para establecer las diferencias significativas entre pares de medias.

Respuestas experimentales: cadmio y plomo (mg/kg de materia seca y mg/kg de materia húmeda)

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. Análisis y discusión de los resultados

##### 4.1.1 Medición de parámetros físico-químicos de Pastos

Las muestras de pastos fueron caracterizadas en cuanto a su contenido de humedad, los valores se reportan en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Parámetros Físico-Químico de las muestras de pastos recolectadas en los sectores de Hualcanga de Santa Anita y Guanto - cantón Quero

Muestras de forrajes	Humedad	
	Hualcanga	Guanto
Alfalfa	80,946 ± 1,087	83,686 ± 0,586
Vicea	88,464 ± 2,992	85,210 ± 2,276
Pasto Azul	83,106 ± 1,070	86,812 ± 2,608

Los porcentajes de humedad se encuentran en un rango comprendido entre 80 y 88%. Siendo ligeramente superior la humedad en las muestras colectadas en el sector de Guanto, a diferencia de la vicea que tiene un mayor porcentaje en el sector Hualcanga.

Los valores de humedad pueden cambiar en base a las condiciones climáticas del lugar, por lo que únicamente son empleados como una caracterización general de las muestras.

En las muestras de suelo, leche y agua se analizaron los parámetros de humedad y pH, valores reportados en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Parámetros Físico-Químico de las muestras de suelo, agua y leche recolectadas en el sector de Guanto y Hualcanga de Santa Anita - cantón Quero

Muestras	Guanto		Hualcanga	
	Humedad	pH	Humedad	pH
<b>Suelo</b>	19,935 ± 1,176	6,302 ± 0,242	17,655 ± 1,093	6,763 ± 0,436
<b>Leche</b>	85,470 ± 0,958	6,591 ± 0,120	85,594 ± 0,477	6,537 ± 0,085
<b>Agua</b>	-	8,496 ± 0,011	-	8,325 ± 0,031

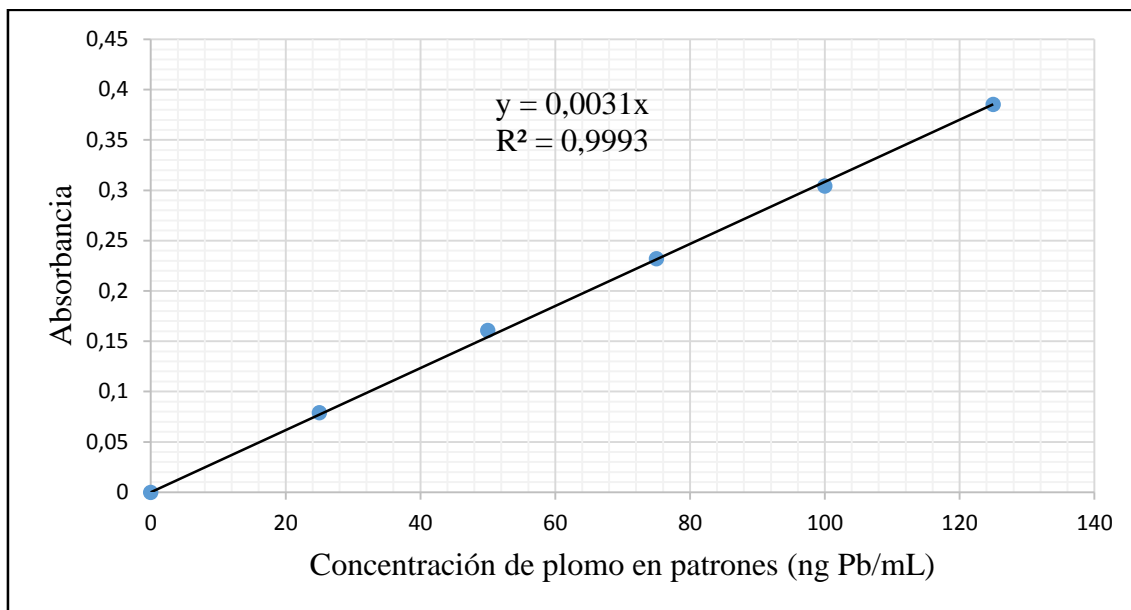
El valor de humedad para las muestras de suelo agrícola recolectadas en el sector de Guanto es ligeramente superior (19,935%) en relación a las muestras del sector Hualcanga (17,455%), probablemente debido al clima de cada lugar y a las condiciones del día de recolección. En relación al pH de las muestras, se observa que es muy similar en ambos sectores y su valor se encuentra dentro del rango (pH: 6 – 8) especificado en el Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente (TULSMA) (TULSMA & Constitución de la República, 2015), siendo este suelo apto para el alimento de plantas, crecimiento de cultivos y producción de ganado.

El pH medido en las muestras recolectadas de agua de regadío es muy parecido en ambos sectores, encontrando un valor ligeramente más alto en el sector de Guanto. El rango establecido como parámetro de calidad de agua de riego según TULSMA es de 6,5–8,4; por lo que la muestra tomada en Guanto estaría fuera del límite máximo permisible (TULSMA & Constitución de la República, 2015).

Los valores de humedad en leche de vaca son prácticamente iguales en ambos sectores, y en lo que respecta al valor de pH, éste se encuentra dentro del rango aceptado por la norma de NTE INEN (2016) donde la leche de vaca recién ordeñada y sana, es ligeramente ácida, con un pH comprendido entre 6,4, y 6,7.

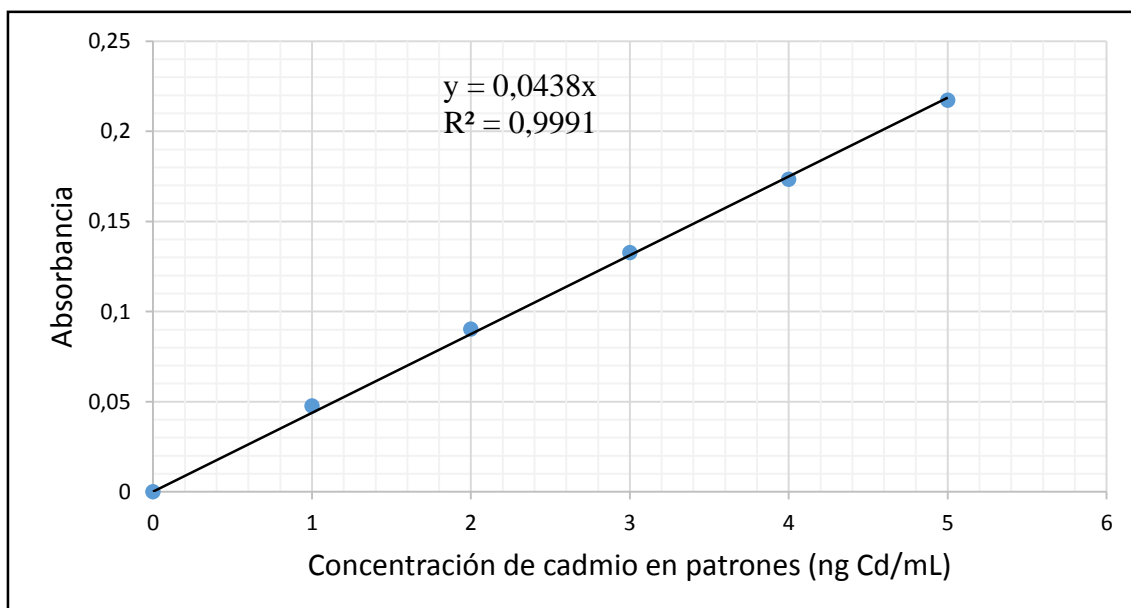
#### 4.1.2 Curva de Calibrado

A partir de las seis concentraciones patrón medidas en el equipo de absorción atómica, se obtuvo para el caso del plomo la curva de calibrado (Figura 1) con un coeficiente de correlación de 0,9993, y para el caso del cadmio, la curva de calibrado (Figura 2) presentó coeficiente de correlación de 0,9991.



**Figura 1** Curva de calibración para plomo, obtenida mediante el método de patrón externo

**Fuente:** Proyecto CANJE DE DEUDA ECUADOR – ESPAÑA: FITA - UOITA.



**Figura 2** Curva de calibración para cadmio, obtenida mediante el método de patrón externo

**Fuente:** Proyecto CANJE DE DEUDA ECUADOR – ESPAÑA: FITA - UOITA.

Las gráficas de la curva de calibración muestran la correlación de las concentraciones de los patrones analizadas y la respuesta del equipo de absorción atómica (absorbancia). La calidad del ajuste es muy buena y se ve reflejada por los altos valores del coeficiente

de determinación  $R^2$  (en ambos casos, muy cercano a 1), por lo que las predicciones realizadas a partir del modelo obtenido fueron fiables y satisfactorias.

### 4.1.3 Análisis de Metales Pesados

#### 4.1.3.1 Análisis de plomo (Pb) en pastos

La concentración de plomo en los tres diferentes forrajes (alfalfa, vicea y pasto azul) sometidos a dos distintos tratamientos (lavado y sin lavar) fue obtenida a partir de las absorbancias registradas en el espectrofotómetro de absorción atómica con horno de grafito y su correspondiente interpolación en la curva de calibrado (sección 4.1.2). Para obtener datos representativos se realizó cinco lecturas y se obtuvo el promedio de la concentración de plomo (Anexo b - Tabla.21). Los valores de las concentraciones de plomo en mg de Pb por kg de materia seca y en mg de plomo por g de materia húmeda se indican en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Concentración de plomo en pastos de los sectores del cantón Quero

SECTORES	TRATAMIENTO	FORRAJES	[Pb]	[Pb]
			(mgPb/kg ms)	(mgPb/kg mh)
Guanto	Lavado	Alfalfa	0,791±0,108	0,129 ±0,018
		Vicea	0,263±0,046	0,035 ±0,006
		Pasto azul	0,749±0,092	0,110 ±0,014
	Sin lavar	Alfalfa	0,912±0,139	0,149 ±0,023
		Vicea	0,354±0,047	0,047 ±0,006
		Pasto azul	1,359±0,208	0,199 ±0,030
Hualcanga de Santa Anita	Lavado	Alfalfa	0,368±0,054	0,072 ±0,010
		Vicea	0,529±0,092	0,074 ±0,013
		Pasto azul	0,858±0,049	0,165 ±0,010
	Sin lavar	Alfalfa	0,544±0,050	0,106 ±0,010
		Vicea	0,758±0,042	0,107 ±0,006
		Pasto azul	3,054 ±0,070	0,591 ±0,014

\* ms (masa seca), mh (masa húmeda).



La presente tabla resume la concentración final de plomo en muestras de alfalfa, vicia y pasto azul de los dos sectores analizados del cantón Quero, indicando que la alfalfa y el pasto azul del sector Guanto contienen mayor cantidad de plomo en comparación al contenido evaluado en la vicia. A diferencia del sector Hualcanga de Santa Anita, en donde la mayor concentración de plomo se observa en el pasto azul. Además se puede apreciar que las muestras alcanzan concentraciones de plomo comprendidas en un rango de 0,035 y 0,591 mg Pb por kg de materia húmeda, la mayoría de los valores obtenidos para los dos tratamientos aplicados se encuentran dentro de los límites máximos permisibles establecidos según la Unión Europea, 2017 que determina un valor de 0,20 mg Pb por kg de peso fresco en hortalizas, cultivos y vegetales, observando que únicamente el pasto azul sin lavar del sector Hualcanga se encuentra fuera del límite admisible.

#### **4.1.3.2 Análisis de cadmio (Cd) en pastos**

La concentración de cadmio en los tres diferentes forrajes fue obtenida a partir de las absorbancias registradas en el espectrofotómetro de absorción atómica con horno de grafito y su correspondiente interpolación en la curva de calibrado. Las medidas se realizaron por quintuplicado, y se reporta el valor promedio de las mismas (Anexo b - Tabla 22). Los valores de las concentraciones en mg de Cd por kg de materia seca y en mg de cadmio por kg de materia húmeda obtenidos a partir de la curva de calibrado reportada en la sección 4.1.2 se indican en la Tabla 4.

**Tabla 4.** Concentración de cadmio en pastos de los sectores del cantón Quero

SECTORES	TRATAMIENTO	FORRAJES	[Cd]	[Cd]
			(mgPb/kgms)	(mgPb/kgmh)
Guanto	Lavado	Alfalfa	0,046±0,006	0,008 ±0,001
		Vicea	0,035±0,024	0,002 ±0,001
		Pasto azul	0,432±0,096	0,063 ±0,014
	Sin lavar	Alfalfa	0,065±0,013	0,011 ±0,002
		Vicea	0,504±0,007	0,027 ±0,000
		Pasto azul	1,000±0,099	0,146 ±0,014
Hualcanga de Santa Anita	Lavado	Alfalfa	0,053±0,007	0,010 ±0,001
		Vicea	0,089±0,007	0,013 ±0,001
		Pasto azul	0,084±0,006	0,016 ±0,001
	Sin lavar	Alfalfa	0,161±0,020	0,031 ±0,004
		Vicea	0,299±0,029	0,042 ±0,004
		Pasto azul	0,253±0,015	0,049 ±0,003

\* ms (masa seca), mh (masa húmeda).

En la tabla se indica la concentración final de cadmio en muestras de alfalfa, vicea y pasto azul de los dos diferentes sectores analizados del cantón Quero, donde es notorio que las muestras de alfalfa y vicea presentan menor contaminación por cadmio en el sector Guanto, mientras que el pasto azul y la vicea presentan valores de concentración muy similares y superiores a los de la alfalfa en las muestras del sector de Hualcanga. También se puede observar que las muestras alcanzan concentraciones comprendidas en un rango de 0,002 y 0,146 mg de cadmio por kg de materia húmeda, encontrándose la mayoría de datos dentro de los límites permisibles señalados por la Unión Europea, 2017, que indica un valor de 0,10 mg de cadmio por kg de peso fresco, únicamente el pasto azul sin lavar del cantón Guanto se encuentra fuera de lo contemplado en la norma.

En general se observa que la concentración del metal disminuye en todas las muestras que han sido sometidas a un pre-tratamiento de lavado con la finalidad de remover los restos de tierra acumulados.

#### 4.1.3.3 Análisis de plomo (Pb) y cadmio (Cd) en otras matrices (suelo, agua y leche)

Se determinó la concentración de Cd y Pb en matrices complementarias al trabajo de investigación, tales como suelo, agua de riego y leche, con la finalidad de comprobar si existe o no contaminación por estos metales pesados como efecto de la ceniza volcánica, y los valores obtenidos se reportan en la Tabla N 5.

El análisis en suelo agrícola y agua de riego se realizó con la finalidad de anticipar una posible transferencia de los metales pesados al pasto mediante vía radicular; y para el caso de la leche para analizar una posible transferencia de dichos elementos desde los pastos al ganado y de ellos al alimento y su potencial riesgo en la salud pública.

**Tabla 5.** Concentración de Pb y Cd en suelo, agua y leche de los sectores analizados del cantón Quero

SECTORES	FORRAJES	[Pb]	[Pb]	[Cd]	[Cd]
		(mgPb/kg ms)	(mgPb/kgmh)	(mgCd/kgms)	(mgCd/kgmh)
Guanto	Suelo	1,589 ± 0,516	1,272 ± 0,413	0,260 ± 0,114	0,208 ± 0,091
	Agua	0,137 ± 0,010	-	0,012 ± 0,001	-
	Leche	0,453 ± 0,020	0,066 ± 0,003	0,002 ± 0,0005	0,0002 ± 0,000
Hualcanga	Suelo	0,382 ± 0,107	0,315 ± 0,088	0,062 ± 0,011	0,051 ± 0,009
	Agua	0,234 ± 0,046	-	0,009 ± 0,0005	-
	Leche	0,467 ± 0,023	0,067 ± 0,003	0,002 ± 0,0005	0,0003 ± 0,000

\* ms (masa seca), mh (masa húmeda).

Los valores reportados en la tabla indican que el suelo del sector Guanto presenta mayor concentración de metales pesados (plomo y cadmio) con respecto al suelo del sector Hualcanga de Santa Anita, aunque todos los valores determinados se encuentran dentro de los límites permisibles indicados por TULSMA & Constitución de la República (2015) donde se menciona un valor de 60 mg de Pb/kg (concentración en peso seco) y de 2 mg Cd/kg (concentración en peso seco) en suelo agrícola.

Los valores obtenidos en la medición de plomo y cadmio en muestras de agua de riego de ambos sectores indican que existe una mayor contaminación por plomo en el sector de Hualcanga y una mayor contaminación por cadmio en el sector de Guanto,

encontrándose la concentración de éste último elemento (Cd) fuera de los límites aceptables según TULSMA & Constitución de la República (2015), donde el valor indicado por la norma es de 0,005 mg/L para cadmio y un valor de 5,0 mg/L para plomo.

Con respecto al análisis de plomo y cadmio reportado para las muestras de leche se observa claramente que son muy similares en ambos sectores, verificando que las concentraciones de ambos metales se encuentran dentro de los límites permitidos señalados por la Unión Europea (2017) que indica un valor de 0,020 mg de Pb por kg de peso fresco, y un valor de 0,010 mg de Cd por kg de peso fresco.

#### **4.1.3 Análisis Estadístico de datos**

El procedimiento realizado para el análisis estadístico y de varianza de varios factores para la concentración de plomo y cadmio se ejecutó en Statgraphics, en el cual se realizó varias pruebas para determinar qué factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la concentración de ambos metales.

Se evaluó la significancia de las interacciones entre los factores a través de la prueba-F en la tabla ANOVA, y para cada factor significativo las Pruebas de Rangos Múltiples dieron medias significativamente diferentes. Los datos obtenidos se reportan en las siguientes tablas.

**Tabla 6.** Análisis de Varianza para concentración de plomo - Suma de Cuadrados Tipo III.

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Gl</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
<b>Efectos principales</b>					
<b>A:SECTOR</b>	1,19201	1	1,19201	4,64	<b>0,0359</b>
<b>B:FORRAJE</b>	12,1651	2	6,08257	23,69	<b>0,0000</b>
<b>C:CONDICIÓN LAVADO</b>	4,90833	1	4,90833	19,11	<b>0,0001</b>
<b>D:RÉPLICA</b>	0,0637074	4	0,0159269	0,06	0,9927
<b>RESIDUOS</b>	13,0961	51	0,256787		
<b>TOTAL (CORREGIDO)</b>	31,4253	59			

\*Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

La tabla de ANOVA (Tabla 6) descompone la variabilidad de concentración de plomo en contribuciones debidas a varios factores como son el sector, el tipo de forraje y el tipo de tratamiento. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Los 3 valores-P indicados en color rojo al ser menores que 0,05, muestran que tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la concentración de plomo a un nivel de confianza del 95,0%.

**Tabla 7.** Análisis de Varianza para concentración de plomo - Suma de Cuadrados Tipo III - Interacción

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
<b>Efectos principales</b>					
<b>A:SECTOR</b>	1,19201	1	1,19201	104,08	0,0000
<b>B:FORRAJE</b>	12,1651	2	6,08257	531,07	0,0000
<b>C:CONDICIÓN LAVADO</b>	4,90833	1	4,90833	428,55	0,0000
<b>D:RÉPLICA</b>	0,0637074	4	0,0159269	1,39	0,3197
<b>INTERACCIONES</b>					
<b>AB</b>	4,26429	2	2,13214	186,16	0,0000
<b>AC</b>	1,33653	1	1,33653	116,69	0,0000
<b>BC</b>	5,24164	2	2,62082	228,83	0,0000
<b>ABC</b>	1,87727	2	0,938633	81,95	0,0000
<b>RESIDUOS</b>	0,0916267	8	0,0114533		
<b>TOTAL (CORREGIDO)</b>	31,4253	59			

\*Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

La tabla de ANOVA (Tabla 7) descompone la variabilidad de concentración de plomo en contribuciones debidas a las interacciones de varios factores. Se observa que 7 valores-P son menores que 0,05, lo cual indica que dichas interacciones de factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la concentración de plomo con un 95,0% de nivel de confianza.

#### **Pruebas de Múltiples Rangos para concentración de plomo por sector**

**Tabla 8.** Método: 95,0 porcentaje Tukey HS

<b>SECTOR</b>	<b>Casos</b>	<b>Media LS</b>	<b>Sigma LS</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
<b>0</b>	30	0,7381	0,0195391	X
<b>1</b>	30	1,02	0,0195391	X
<b>Contraste</b>	<b>Sig.</b>	<b>Diferencia</b>	<b>+/- Límites</b>	
<b>0 - 1</b>	*	<b>-0,2819</b>	0,0637208	

\* indica una diferencia significativa.

Los datos reportados en la Tabla 8, presentan un procedimiento de comparación múltiple para la determinación de las medias significativamente diferentes, la mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. Se ha colocado un asterisco junto a unpar, indicando que este par muestra diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95,0%. Existe diferencia significativa entre los grupos homogéneos identificados. El método empleado para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey.

## Pruebas de Múltiples Rangos para concentración plomo por forraje

Tabla 9. Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

FORRAJE	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	20	0,47585	0,0239305	X
0	20	0,6538	0,0239305	X
2	20	1,5075	0,0239305	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 1	*	0,17795	0,0965379
0 - 2	*	-0,8537	0,0965379
1 - 2	*	-1,03165	0,0965379

\* indica una diferencia significativa.

En la Tabla 9, el asterisco que se encuentra al lado de los 3 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. Además, se ha identificado que existe diferencia significativa entre los 3 grupos homogéneos observados.



## Pruebas de Múltiples Rangos para concentración plomo por condición de lavado

Tabla 10. Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

CONDICIÓN LAVADO	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	30	0,593033	0,0195391	X
0	30	1,16507	0,0195391	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 1	*	0,572033	0,0637208

\* indica una diferencia significativa.

En la Tabla 10, la mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco colocado junto a 1 par, indican que este par tiene diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. Se han identificado 2 grupos homogéneos que muestran diferencia significativa entre ellos, dada su no alineación de las X's en columnas. El método empleado para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey.

**Tabla 11.** Análisis de Varianza para concentración de cadmio - Suma de Cuadrados  
Tipo III

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Gl</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:SECTOR	0,544735	1	0,544735	16,81	<b>0,0001</b>
B:FORRAJE	1,31231	2	0,656153	20,24	<b>0,0000</b>
C:CONDICIÓN DE LAVADO	0,990992	1	0,990992	30,57	<b>0,0000</b>
D:RÉPLICA	0,0035261	4	0,000881525	0,03	0,9985
RESIDUOS	1,65315	51	0,0324147		
<b>TOTAL (CORREGIDO)</b>	<b>4,50471</b>	<b>59</b>			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

La tabla ANOVA (Tabla 11) descompone la variabilidad de concentración de cadmio en contribuciones debidas a varios factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de dichos factores. Puesto que 3 valores-P son menores que 0,05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la concentración de cadmio con un 95% de nivel de confianza.

**Tabla 12.** Análisis de Varianza para concentración de cadmio - Suma de Cuadrados

Tipo III - Interacciones

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:SECTOR	0,544735	1	0,544735	187,09	0,0000
B:FORRAJE	1,31231	2	0,656153	225,36	0,0000
C:CONDICIÓN DE LAVADO	0,990992	1	0,990992	340,36	0,0000
D:RÉPLICA	0,0035261	4	0,000881525	0,30	0,8683
INTERACCIONES					
AB	0,995925	2	0,497963	171,03	0,0000
AC	0,1349	1	0,1349	46,33	0,0001
BC	0,282874	2	0,141437	48,58	0,0000
CD	0,0096309	4	0,00240773	0,83	0,5437
ABC	0,157783	2	0,0788917	27,10	0,0003
RESIDUOS	0,0232931	8	0,00291163		
TOTAL (CORREGIDO)	4,50471	59			

\*Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

En la Tabla 12, se observa que 7 valores-P son menores que 0,05, las interacciones de estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la concentración de cadmio con un 95,0% de nivel de confianza.

## Pruebas de Múltiples Rangos para concentración de cadmio por sector

Tabla 13. Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

SECTOR	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	30	0,1565	0,0098516 2	X
0	30	0,347067	0,0098516 2	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 1	*	0,190567	0,032128

\* indica una diferencia significativa.

En la Tabla 13, se aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes, donde la mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco junto al 1 par, indica que este par muestra diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. Además se han identificado 2 grupos homogéneos, los mismos que resultan ser significativamente diferentes según la alineación de las X's en columnas.

## Pruebas de Múltiples Rangos para concentración de cadmio por forraje

Tabla 14. Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

FORRAJE	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
0	20	0,08165	0,0120657	X
1	20	0,2315	0,0120657	X
2	20	0,4422	0,0120657	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 1	*	-0,14985	0,0486743
0 - 2	*	-0,36055	0,0486743
1 - 2	*	-0,2107	0,0486743

\* indica una diferencia significativa.

En la Tabla 14, el asterisco que se encuentra al lado de los 3 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. Se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas con diferencia significativa entre ellos. El método empleado para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey.

## Pruebas de Múltiple Rangos para concentración de cadmio por condición de lavado

Tabla 15. Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

CONDICIÓN DE LAVADO	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	30	0,123267	0,00985162	X
0	30	0,3803	0,00985162	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 1	*	0,257033	0,032128

\* indica una diferencia significativa.

Finalmente, en la Tabla 15, el asterisco junto a 1 par, indica que este par muestra diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. Se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas y dichos grupos muestran diferencia significativa entre ellos.

En consecuencia, tanto los factores individuales como sus interacciones han mostrado diferencias significativas.

### 4.2 Verificación de las hipótesis

En base a los datos obtenidos y analizados se determina que la alfalfa, vicia y pasto azul de los sectores Guanto y Hualcanga de Santa Anita del cantón Quero si contienen metales pesados, por efecto de la ceniza del volcán Tungurahua.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1. Conclusiones

Se estableció el tratamiento adecuado para las muestras, con la finalidad de reducir al máximo el efecto de la matriz e interferencias en el análisis, para lo cual fue necesario la modificación de métodos ya realizados, con respecto a la cantidad de muestra utilizada y el uso de ácido con la finalidad de obtener buenos resultados con menor cantidad de materiales para volver así más económico el proceso.

Se determinó la concentración de plomo presente en alfalfa, vicea y pasto azul. Se observó que la alfalfa y el pasto azul del sector Guanto contenían mayor cantidad de plomo en comparación al contenido en la vicea; a diferencia del sector Hualcanga de Santa Anita, en donde la mayor concentración de plomo se observó en el pasto azul. En cuanto a la concentración final de cadmio en las muestras, es notorio que las muestras de alfalfa y vicea presentan menor contaminación por cadmio en el sector Guanto, mientras que el pasto azul y la vicea presentan valores de concentración muy similares. Se observó que la mayoría de datos obtenidos están dentro de los límites permisibles indicados por la Unión Europea (2017) y en general la concentración del metal disminuye en todas las muestras que han sido sometidas a un pre-tratamiento de lavado.

Se analizó la concentración de cadmio y plomo presente en otras matrices como suelo agrícola, agua de riego, y leche; se aprecia que los valores determinados en suelo se encuentran dentro de los límites permisibles; los valores obtenidos en la medición de los metales en muestras de agua de riego de ambos sectores, indican que existe una mayor contaminación por plomo en el sector de Hualcanga y una mayor contaminación por cadmio en el sector de Guanto, encontrándose éste último elemento (Cd) fuera de los límites aceptables establecidos según TULSMA & Constitución de la República (2015). La medición de la concentración de ambos metales en leche señala que los valores obtenidos estaban dentro de la norma de INEN, ECUADOR, 2016.

Se elaboró curvas de calibrado mediante el uso de patrones externos, para la determinación de la concentración de metales pesados (Pb y Cd) por el método de absorción atómica con horno de grafito en tres muestras de pasto (alfalfa, vicea y pasto

azul) colectadas en dos sectores diferentes (Guanto y Hualcanga de Santa Anita) del cantón Quero afectado por la ceniza del volcán Tungurahua.

## **5.2. Recomendaciones**

Se recomienda ampliar el estudio sobre la presencia de metales pesados en ambientes contaminados por efecto de la ceniza. Tal estudio puede desarrollarse sobre otros tipos de pastos e incluso en diferentes variedades de vegetales cosechados en el área como parte del análisis de su inocuidad.

Bajo el uso de la misma técnica de análisis (espectroscopia de absorción atómica) se pueden analizar diferentes minerales en productos alimenticios como aporte a su contenido nutricional, tomando en cuenta el seguimiento de un protocolo de muestreo.

Los metales pesados constituyen un riesgo grave de salud porque se acumulan en los suelos, el agua y los organismos. Razón por la cual se puede extender el estudio a procesos de biorremediación de suelos y aguas de riego contaminadas por metales pesados, mediante la aplicación de la fitorremediación, ya que se conoce la existencia de muchas plantas hiperacumuladoras que tienen la capacidad de acumular grandes cantidades de metales pesados, así por medio de esta tecnología sustentables se podría reducir la concentración o peligrosidad de contaminantes orgánicos e inorgánicos en agua, suelo y aire.



## MATERIALES DE REFERENCIA

### Referencias Bibliográficas

- A. Garnier-Suillerot. (1997). *ACTIVE EFFLUX MECHANISMS FOR CELLULAR RESISTANCE*. Netherlands: Kluwer Academic Press. France.  
<http://doi.org/10.1007/978-94-011-5780-3>
- Aghamohammadi, M., Faraji, M., & Shahdousti, P. (2015). Trace Determination of Lead, Chromium and Cadmium in Herbal Medicines Using Ultrasound-Assisted Emulsion Microextraction Combined with Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry, (October 2014), 209–214.  
<http://doi.org/10.1002/pca.2554>
- APHA, AWWA, W. (1992). Standard methods for examination of water and wastewater. *Ed. American Public Health, 18*(Assoc.Washington, D.C.).
- Bakkali, K., Ballesteros, E., Souhail, B. & Ramos Martos, N. (2009). Determinación de trazas metálicas en aceites vegetales de España y Marruecos mediante espectroscopía de absorción con cámara de grafito después de la digestión en horno de microondas. *Grasas Y Aceites, 60*(5), 492–499.  
<http://doi.org/10.3989/gya.031909>
- Bensoain, E., Ruíz, R. & Hepp, K. C. (1995). La erupción del volcán Hudson, XI Región, y sus consecuencias para la agricultura, 16.
- Europea, U. (2017). METALES PESADOS Revisión Marzo 2017. CONTENIDOS MAXIMOS EN METALES PESADOS EN PRODUCTOS ALIMENTICIOS.
- García, H., Zauahre, M. El, Morán, H., Acosta, Y. & Senior, A. (2006). Análisis comparativo de dos técnicas de digestión para la determinación de metales pesados en lodos residuales, 6, 234–243.
- Garzón, A. (2006). Información Plomo y Cadmio en Ecuador. Ministerio del Ambiente - República del Ecuador. Retrieved from [http://www.unep.org/hazardoussubstances/Portals/9Lead\\_Cadmium/docs/submissions/Submis\\_GOV\\_ECUADOR.pdf](http://www.unep.org/hazardoussubstances/Portals/9Lead_Cadmium/docs/submissions/Submis_GOV_ECUADOR.pdf)

- Gobierno Autonomo y Descentralizado Cantón Quero. (2015). Actualización del Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial del Cantón Santiago de Quero - Provincia de Tungurahua, 327. Retrieved from [http://app.sni.gob.ec/visorseguimiento/DescargaGAD/data/documentoFinal/1060000500001\\_DOCUMENTO\\_FINAL\\_PDOT\\_OTAVALO\\_15-03-2015\\_19-55-15.pdf](http://app.sni.gob.ec/visorseguimiento/DescargaGAD/data/documentoFinal/1060000500001_DOCUMENTO_FINAL_PDOT_OTAVALO_15-03-2015_19-55-15.pdf)
- Hadiani, M., Dezfooli-Manesh, S., Shoeibi, S., Ziarati, P. & Mousavi Khaneghah, A. (2015). Trace elements and heavy metals in mineral and bottled drinking waters on the Iranian market, 8, 18–24. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25174358>
- Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew, B. B. & Beeregowda, K. N. (2014). Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdisciplinary Toxicology*, 7(2), 60–72. <http://doi.org/10.2478/intox-2014-0009>
- Khan, Z. I., Ahmad, K., Bayat, A., & Mukhtar, M. K. (2013). Evaluation of Lead Concentration in Pasture and Milk : A Possible Risk for Livestock and Public Health, 45(1), 79–84.
- Lozano, C. (2014). Estudio en Toxicología de la contaminación por cadmio y arsénica en las fuentes de abastecimiento de agua expuestas a la ceniza del volcán Tungurahua en las Provincias Guanando y La Providencia del Cantón Guano en la Provincia del Chimborazo, 85.
- Maas, S., Lucot, E., Gimbert, F., Crini, N. & Badot, P. (2011). Trace metals in raw cows ' milk and assessment of transfer to Comté cheese, 129, 7–12. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.09.034>
- Matus Medina, S. A., Guillen Paredes, R., Meléndez Calderon, O. L. & Castillo Ruiz, G. A. (2013). Determinación de plomo en leche de ganado bovino en el Cantón Sitio del Niño , Municipio de San Juan Opico , 39–48.
- Menéndez, G. M. (1997). Toxicología del cobre. España.
- NTE INEN, N. T. E. (2016). INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN- NTE -INEN 9- LECHE CRUDA REQUISITOS. In *INEN* (p. 5). Quito - Ecuador. Retrieved from [www.normalizacion.gob.ec](http://www.normalizacion.gob.ec)

- Peralta-Videa, J. R., Lopez, M. L., Narayan, M., Saupe, G. & Gardea-Torresdey, J. (2009). The biochemistry of environmental heavy metal uptake by plants: implications for the food chain. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 41(8-9), 1665–1677. <http://doi.org/10.1016/j.biocel.2009.03.005>
- PG, I. (n.d.). ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETER AA500. Retrieved from [www.pg instruments.com](http://www.pg instruments.com)
- Polo, M. P. (2009). Análisis de la concentración de arsénico en tres alimentos: papas, zanahoria y leche cruda producidos en las zonas afectadas por el volcán Tungurahua (Mocha-Quero), 133.
- Ramezani, Z., Aghel, N., Shiralipour, R. & Zadeh, R. (2011). Determination of Lead and Cadmium Content of Dill ( *Anethum graveolens*) and Onion ( *Allium Cepa L*) Cultivated in Khozestan/Iran, 7(3), 197–203.
- Rashid, H., Fardous, Z., Zaman, A., Alam, K., Bari, L., Moniruzzaman, M. & Hua Gan, S. (2016). Determination of heavy metals in the soils of tea plantations and in fresh and processed tea leaves: an evaluation of six digestion methods., 13. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26900397>
- Reglamento (CE) 466. (2001). Comisión del 8 de marzo del 2001 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en productos alimenticios.
- Rodríguez, E. M., Delgado, E. & Díaz, C. (1999). Concentrations of cadmium and lead in different types of milk, 162–168. Retrieved from <http://link.springer.com/article/10.1007/s002170050395>
- Rubio, C. (2005). Ingesta de contaminantes metálicos (Hg,Pb,Cd, Fe, CU, Zn y Mn) en la comunidad autónoma canaria. Evaluación toxicológica, 185.
- Semarnat/SSA1, N. 147-2004. (2007). NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, Que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio. *Diario Oficial de La Federación*, 2, 69. Retrieved from <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/147ssa16.html>

Tello, M. de los A. (2015). *EVALUACIÓN DEL RIESGO DE PLOMO Y CADMIO EN SUELOS DEL ENTORNO DEL PARQUE INDUSTRIAL DE LA CIUDAD DE CUENCA* ". Universidad Estatal de Cuenca.

TULSMA & Constitución de la República, E. (2015). Registro Oficial. Administración del Sr. Ec. Rafael Correa Delgado . Presidente Constitucional de la República. Quito - Ecuador: Ministerio del Ambiente.

Turcios, J. (2010). *Determinación Cuantitativa de Arsénico, Cobre, Plomo y Cadmio en (Brasica Olerosa) brócoli que se cultiva en la parcela San José. Tecpán Municipio de Chipaltenango. Climate Change 2013 - The Physical Science Basis.*  
<http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

# **Anexos**

**ANEXO A:** CONDICIONES DEL EQUIPO DE ABSORCIÓN ATÓMICA CON HORNO DE GRAFITO

**ANEXO B:** DATOS OBTENIDOS

**ANEXO C:** ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE DATOS

**ANEXO D:** DIAGRAMA DE FLUJO DEL PROCESO DE OBTENCIÓN DE MUESTRAS EN EL CANTÓN QUERO

**a) Condiciones del equipo de absorción atómica con horno de grafito**

**Tabla 16.** Condiciones Instrumentales para la lectura de plomo y cadmio en el equipo de absorción atómica

<b>PARÁMETROS DE ANÁLISIS</b>	<b>PLOMO</b>	<b>CADMIO</b>
Línea analítica	283,3 nm	228,8 nm
Banda ancha	0,4 nm	0,4 nm
Factor de filtro	0,1	0,1
Corriente de la lámpara	3,0 ma	5,0 ma
Tiempo de integración	3,0 sec	3,0 sec
Fondo/ambiente	Ninguno	D2
Tipo de grafito	Plataforma recubierta	Plataforma recubierta
Tamaño de la muestra	10 µL	10 µL
Acidez	0,1% Nítrico	0,1% Nítrico
Sensibilidad	5,18 pg/mL	0,4 pg/mL
Límite de detección	3,88 pg/mL	0,25 pg/mL
Rango de trabajo	1 – 100 ng/mL	0,10 - 6,0ng/mL

Tomado del Manual de Usuario del Equipo de Absorción Atómica (PG, n.d.)

**Tabla 17.** Parámetros para el análisis. Horno de grafito – programa de calor del horno - Cadmio

<b>Stage</b>	<b>Temp</b>	<b>Ramp</b>	<b>Hold</b>	<b>Int</b>	<b>Gas</b>
<b>1</b>	90	5	10		High
<b>2</b>	120	5	10		High
<b>3</b>	500	5	10		High
<b>4</b>	1800	0	3	yes	Off
<b>5</b>	1900	1	2		High

Tomado del Manual de Usuario del Equipo de Absorción Atómica (PG, n.d.)

**Tabla 18.** Parámetros para el análisis. Horno de grafito – programa de calor del horno - Plomo

Stage	Temp	Ramp	Hold	Int	Gas
1	70	10	10		High
2	110	10	10		High
3	450	10	15		High
4	1800	0	3	yes	Off
5	1900	1	2		High

Tomado del Manual de Usuario del Equipo de Absorción Atómica (PG, n.d.)

**b) Datos Obtenidos**

**Tabla 19.** Absorbancia, desviación estándar y coeficiente de variación de plomo para la obtención de la curva de calibración.

ng Pb/ml	R1	R2	R3	Absorbancia	Desviación estándar	Coefficiente de variación
0	0	0	0	0	0	0
25	0,078	0,082	0,077	0,0790	0,0026	3,349
50	0,167	0,155	0,161	0,1610	0,0060	3,727
75	0,237	0,236	0,223	0,2320	0,0078	3,366
100	0,295	0,311	0,307	0,3043	0,0083	2,736
125	0,371	0,391	0,394	0,3853	0,0125	3,245

Fuente: Proyecto **CANJE DE DEUDA ECUADOR – ESPAÑA: FITA - UOITA.**

**Tabla 20.** Absorbancia, desviación estándar y coeficiente de variación de cadmio para la obtención de la curva de calibración.

ng Cd/ml	R1	R2	R3	Absorbancia	Desviación estándar	Coeficiente de variación
0	0	0	0	0	0	0
1	0,048	0,046	0,049	0,0477	0,0015	3,12
2	0,093	0,086	0,092	0,0903	0,0038	4,12
3	0,133	0,129	0,136	0,1327	0,0035	2,58
4	0,169	0,182	0,169	0,1733	0,0075	4,44
5	0,219	0,215	0,218	0,2173	0,0021	0,95

Fuente: Proyecto **CANJE DE DEUDA ECUADOR – ESPAÑA: FITA - UOITA.**

**Tabla 21.** Medición de la concentración de plomo en forrajes de distintos sectores del cantón Quero

LUGAR	TRATAMIENTO	MUESTRAS	w de la muestra (g)	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia 3	Absorbancia 4	Absorbancia 5	Vol. de aforado
GUANTO	LAVADO	ALFALFA	1,0028	0,035	0,035	0,027	0,034	0,032	100
		VICEA	1,0529	0,017	0,015	0,016	0,016	0,019	100
		PASTO AZUL	0,9989	0,028	0,035	0,033	0,029	0,031	100
	SIN LAVAR	ALFALFA	1,0255	0,042	0,039	0,031	0,039	0,034	100
		VICEA	1,0399	0,021	0,019	0,018	0,021	0,018	100
		PASTO AZUL	1,0017	0,059	0,049	0,041	0,052	0,050	100
	OTRAS MATRICES	SUELO	1,028	0,079	0,088	0,063	0,051	0,052	100
		LECHE	0,989	0,053	0,058	0,059	0,058	0,055	25
		AGUA	1	0,016	0,019	0,019	0,018	0,018	25
		ALFALFA	1	0,018	0,022	0,018	0,019	0,020	100
	LAVADO	VICEA	1,0131	0,027	0,024	0,027	0,020	0,025	100
		PASTO AZUL	0,9929	0,036	0,033	0,033	0,036	0,034	100
ALFALFA		0,9851	0,024	0,025	0,024	0,027	0,023	100	



<b>HUALCAN GA SANTA ANITA</b>	<b>SIN LAVAR</b>	VICEA	1,0127	0,031	0,032	0,031	0,034	0,031	100
		PASTO AZUL SIN LAVAR	0,9981	0,104	0,101	0,106	0,101	0,102	100
	<b>OTRAS MATRICES</b>	SUELO	1,031	0,024	0,031	0,031	0,030	0,025	100
		LECHE	1,0009	0,059	0,055	0,063	0,060	0,058	25
		AGUA	1	0,037	0,028	0,035	0,025	0,025	25

\*Cada valor obtenido de las absorbancias es el promedio de tres inyecciones realizadas en el equipo de absorción atómica con horno de grafito.

**Tabla 22.** Medición de la concentración de cadmio en forrajes de distintos sectores del cantón Quero

<b>LUGAR</b>	<b>TRATAMI ENTO</b>	<b>MUESTRAS</b>	<b>w de la muestra (g)</b>	<b>Absor bancia 1</b>	<b>Absor bancia 2</b>	<b>Absor bancia 3</b>	<b>Absor bancia 4</b>	<b>Absor bancia 5</b>	<b>Vol. de afor ado</b>
<b>GUANTO</b>	<b>LAVADO</b>	ALFALFA	1,0028	0,048	0,050	0,046	0,045	0,043	100
		VICEA	1,0529	0,058	0,036	0,036	0,042	0,032	100
		PASTO AZUL	0,9989	0,167	0,172	0,246	0,25	0,241	100
	<b>SIN LAVAR</b>	ALFALFA	1,0255	0,051	0,057	0,053	0,051	0,065	100
		VICEA	1,0399	0,239	0,245	0,246	0,24	0,242	100
		PASTO AZUL	1,0017	0,488	0,478	0,388	0,478	0,491	100
	<b>OTRAS MATRICES</b>	SUELO	1,028	0,079	0,083	0,083	0,177	0,173	100
		LECHE	0,989	0,007	0,007	0,008	0,009	0,008	25
		AGUA	1	0,027	0,027	0,028	0,026	0,025	25
<b>HUALCAN</b>	<b>LAVADO</b>	ALFALFA	1	0,052	0,052	0,045	0,050	0,048	100
		VICEA	1,0131	0,067	0,060	0,065	0,068	0,067	100
		PASTO AZUL	0,9929	0,059	0,064	0,062	0,066	0,062	100
	<b>SIN LAVAR</b>	ALFALFA	0,9851	0,094	0,091	0,094	0,110	0,088	100
		VICEA	1,0127	0,169	0,175	0,145	0,150	0,154	100

GA SANTA ANITA	PASTO AZUL SIN LAVAR	0,9981	0,141	0,136	0,140	0,125	0,140	100
	SUELO	1,031	0,027	0,025	0,027	0,035	0,036	100
	<b>OTRAS</b> LECHE	1,0009	0,009	0,008	0,009	0,007	0,008	25
	<b>MATRICES</b> AGUA	1	0,022	0,022	0,021	0,021	0,020	25

\*Cada valor obtenido de las absorbancias es el promedio de tres inyecciones realizadas en el equipo de absorción atómica con horno de grafito.

### c) Análisis estadístico de datos

**Tabla 23.** Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para Concentración de PLOMO con intervalos de confianza del 95,0%

Nivel	Casos	Media	Error Est.	Límite Inferior	Límite Superior
MEDIA GLOBAL	60	0,8790 5			
SECTOR					
0	30	0,7381	0,0195391	0,693043	0,783157
1	30	1,02	0,0195391	0,974943	1,06506
FORRAJE					
0	20	0,6538	0,0239305	0,598616	0,708984
1	20	0,4758 5	0,0239305	0,420666	0,531034
2	20	1,5075	0,0239305	1,45232	1,56268
CONDICIÓN LAVADO					
0	30	1,1650 7	0,0195391	1,12001	1,21012
1	30	0,5930 33	0,0195391	0,547976	0,638091
RÉPLICA					
1	12	0,9253 33	0,0308941	0,854091	0,996575
2	12	0,8909	0,0308941	0,819675	0,962159

		17				
3	12	0,8269 17	0,0308941	0,755675	0,898159	
4	12	0,8880 83	0,0308941	0,816841	0,959325	
5	12	0,864	0,0308941	0,792758	0,935242	
SECTOR por FORRAJE						
0,0	10	0,8518	0,0338428	0,773758	0,929842	
0,1	10	0,3084	0,0338428	0,230358	0,386442	
0,2	10	1,0541	0,0338428	0,976058	1,13214	
1,0	10	0,4558	0,0338428	0,377758	0,533842	
1,1	10	0,6433	0,0338428	0,565258	0,721342	
1,2	10	1,9609	0,0338428	1,88286	2,03894	
SECTOR por CONDICIÓN						
LAVADO						
0,0	15	0,8748 67	0,0276325	0,811146	0,938588	
0,1	15	0,6013 33	0,0276325	0,537612	0,665054	
1,0	15	1,4552 7	0,0276325	1,39155	1,51899	
1,1	15	0,5847 33	0,0276325	0,521012	0,648454	
SECTOR por RÉPLICA						
0,1	6	0,8176 67	0,0436908	0,716915	0,918418	
0,2	6	0,7651 67	0,0436908	0,664415	0,865918	
0,3	6	0,6265	0,0436908	0,525748	0,727252	
0,4	6	0,759	0,0436908	0,658248	0,859752	
0,5	6	0,7221 67	0,0436908	0,621415	0,822918	
1,1	6	1,033	0,0436908	0,932248	1,13375	

1,2	6	1,0166 7	0,0436908	0,915915	1,11742
1,3	6	1,0273 3	0,0436908	0,926582	1,12808
1,4	6	1,0171 7	0,0436908	0,916415	1,11792
1,5	6	1,0058 3	0,0436908	0,905082	1,10658
FORRAJE por					
CONDICIÓN LAVADO					
0,0	10	0,7279	0,0338428	0,649858	0,805942
0,1	10	0,5797	0,0338428	0,501658	0,657742
1,0	10	0,5558	0,0338428	0,477758	0,633842
1,1	10	0,3959	0,0338428	0,317858	0,473942
2,0	10	2,2115	0,0338428	2,13346	2,28954
2,1	10	0,8035	0,0338428	0,725458	0,881542
FORRAJE por RÉPLICA					
0,1	4	0,6965	0,0535101	0,573105	0,819895
0,2	4	0,7132 5	0,0535101	0,589855	0,836645
0,3	4	0,5452 5	0,0535101	0,421855	0,668645
0,4	4	0,697	0,0535101	0,573605	0,820395
0,5	4	0,617	0,0535101	0,493605	0,740395
1,1	4	0,5042 5	0,0535101	0,380855	0,627645
1,2	4	0,457	0,0535101	0,333605	0,580395
1,3	4	0,4732 5	0,0535101	0,349855	0,596645
1,4	4	0,4645	0,0535101	0,341105	0,587895
1,5	4	0,4802 5	0,0535101	0,356855	0,603645
2,1	4	1,5752	0,0535101	1,45186	1,69864

		5				
2,2	4	1,5025	0,0535101	1,37911	1,62589	
		1,4622				
2,3	4	5	0,0535101	1,33886	1,58564	
		1,5027				
2,4	4	5	0,0535101	1,37936	1,62614	
		1,4947				
2,5	4	5	0,0535101	1,37136	1,61814	
CONDICIÓN LAVADO						
por RÉPLICA						
		1,2458				
0,1	6	3	0,0436908	1,14508	1,34658	
		1,1605				
0,2	6	1,0866	0,0436908	1,05975	1,26125	
		7				
0,3	6	1,2085	0,0436908	0,985915	1,18742	
		1,1238				
0,4	6	3	0,0436908	1,10775	1,30925	
		0,6048				
0,5	6	33	0,0436908	1,02308	1,22458	
		0,6213				
1,1	6	33	0,0436908	0,504082	0,705585	
		0,6213				
1,2	6	33	0,0436908	0,520582	0,722085	
		0,5671				
1,3	6	67	0,0436908	0,466415	0,667918	
		0,5676				
1,4	6	67	0,0436908	0,466915	0,668418	
		0,6041				
1,5	6	67	0,0436908	0,503415	0,704918	

Esta tabla se muestra la media de la concentración de plomo para cada uno de los niveles de los factores. También muestra los errores estándar de cada media, los cuales son una medida de la variabilidad en su muestreo. Las dos columnas de la extrema derecha muestran intervalos de confianza del 95,0% para cada una de las medias.

**Tabla 24.** Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para Concentración de Cadmio con Intervalos de Confianza del 95,0%

<b>Nivel</b>	<b>Casos</b>	<b>Media</b>	<b>Error Est.</b>	<b>Límite Inferior</b>	<b>Límite Superior</b>
MEDIA GLOBAL	60	0,2517 83			
<b>SECTOR</b>					
0	30	0,3470 67	0,00985162	0,324349	0,369785
1	30	0,1565	0,00985162	0,133782	0,179218
<b>FORRAJE</b>					
0	20	0,0816 5	0,0120657	0,0538263	0,109474
1	20	0,2315	0,0120657	0,203676	0,259324
2	20	0,4422	0,0120657	0,414376	0,470024
<b>CONDICIÓN DE LAVADO</b>					
0	30	0,3803	0,00985162	0,357582	0,403018
1	30	0,1232 67	0,00985162	0,100549	0,145985
<b>RÉPLICA</b>					
1	12	0,2518 33	0,0155768	0,215913	0,287754
2	12	0,2485 83	0,0155768	0,212663	0,284504
3	12	0,2391 67	0,0155768	0,203246	0,275087
4	12	0,2599 17	0,0155768	0,223996	0,295837
5	12	0,2594 17	0,0155768	0,223496	0,295337
<b>SECTOR por FORRAJE</b>					
0,0	10	0,0561	0,0170635	0,0167514	0,095448

						6
0,1	10	0,2691	0,0170635	0,229751	0,308449	
0,2	10	0,716	0,0170635	0,676651	0,755349	
1,0	10	0,1072	0,0170635	0,0678514	0,146549	
1,1	10	0,1939	0,0170635	0,154551	0,233249	
1,2	10	0,1684	0,0170635	0,129051	0,207749	
SECTOR por CONDICIÓN						
DE LAVADO						
0,0	15	0,523	0,0139323	0,490872	0,555128	
0,1	15	0,1711 33	0,0139323	0,139005	0,203261	
1,0	15	0,2376	0,0139323	0,205472	0,269728	
1,1	15	0,0754	0,0139323	0,043272	0,107528	
SECTOR por RÉPLICA						
0,1	6	0,342	0,0220289	0,291201	0,392799	
0,2	6	0,3368 33	0,0220289	0,286034	0,387632	
0,3	6	0,3281 67	0,0220289	0,277368	0,378966	
0,4	6	0,3626 67	0,0220289	0,311868	0,413466	
0,5	6	0,3656 67	0,0220289	0,314868	0,416466	
1,1	6	0,1616 67	0,0220289	0,110868	0,212466	
1,2	6	0,1603 33	0,0220289	0,109534	0,211132	
1,3	6	0,1501 67	0,0220289	0,0993678	0,200966	
1,4	6	0,1571 67	0,0220289	0,106368	0,207966	
1,5	6	0,1531 67	0,0220289	0,102368	0,203966	

FORRAJE por CONDICIÓN DE LAVADO					
0,0	10	0,1134	0,0170635	0,0740514	0,152749
0,1	10	0,0499	0,0170635	0,0105514	0,089248 6
1,0	10	0,4014	0,0170635	0,362051	0,440749
1,1	10	0,0616	0,0170635	0,0222514	0,100949
2,0	10	0,6261	0,0170635	0,586751	0,665449
2,1	10	0,2583	0,0170635	0,218951	0,297649
FORRAJE por RÉPLICA					
0,1	4	0,0807 5	0,0269798	0,0185344	0,142966
0,2	4	0,0835	0,0269798	0,0212844	0,145716
0,3	4	0,0767 5	0,0269798	0,0145344	0,138966
0,4	4	0,0872 5	0,0269798	0,0250344	0,149466
0,5	4	0,08	0,0269798	0,0177844	0,142216
1,1	4	0,2462 5	0,0269798	0,184034	0,308466
1,2	4	0,2365	0,0269798	0,174284	0,298716
1,3	4	0,2227 5	0,0269798	0,160534	0,284966
1,4	4	0,2275	0,0269798	0,165284	0,289716
1,5	4	0,2245	0,0269798	0,162284	0,286716
2,1	4	0,4285	0,0269798	0,366284	0,490716
2,2	4	0,4257 5	0,0269798	0,363534	0,487966
2,3	4	0,418	0,0269798	0,355784	0,480216
2,4	4	0,465	0,0269798	0,402784	0,527216
2,5	4	0,4737 5	0,0269798	0,411534	0,535966
CONDICIÓN DE LAVADO					



por RÉPLICA					
0,1	6	0,3913 33	0,0220289	0,340534	0,442132
0,2	6	0,3913 33	0,0220289	0,340534	0,442132
0,3	6	0,3473 33	0,0220289	0,296534	0,398132
0,4	6	0,3808 33	0,0220289	0,330034	0,431632
0,5	6	0,3906 67	0,0220289	0,339868	0,441466
1,1	6	0,1123 33	0,0220289	0,0615345	0,163132
1,2	6	0,1058 33	0,0220289	0,0550345	0,156632
1,3	6	0,131	0,0220289	0,0802012	0,181799
1,4	6	0,139	0,0220289	0,0882012	0,189799
1,5	6	0,1281 67	0,0220289	0,0773678	0,178966

Esta tabla muestra la media de concentración de cadmio para cada uno de los niveles de los factores. También muestra los errores estándar de cada media, los cuales son una medida de la variabilidad en su muestreo. Las dos columnas de la extrema derecha muestran intervalos de confianza del 95,0% para cada una de las medias.

**d) Diagrama de Flujo del proceso de obtención de muestras en el cantón Quero**

