



**UNIVERSIDAD DEL AZUAY**  
**DEPARTAMENTO DE POSGRADOS**  
**MAESTRÍA EN GESTIÓN AMBIENTAL**

**Capacidad bioacumuladora de metales pesados en moluscos  
bivalvos de los esteros del cantón Balao**

**Trabajo de graduación previo a la obtención del título de Magíster en  
Gestión Ambiental**

**Autores:**

**Dra. Rocío Carrasco Peña**

**Dra. Rebeca Webster Coello**

**Director:**

**Dr. Piercósimo Tripaldi Cappelletti**

**CUENCA-ECUADOR**

**2016**

## **AGRADECIMIENTO**

Nuestra gratitud al Dr. Piercósimo Tripaldi, Director de UDALAB y al Ing. Andrés Pérez técnico laboratorista de UDALAB, por su valioso apoyo en el desarrollo de nuestra investigación.

## RESUMEN

La presencia de metales pesados en ecosistemas acuáticos produce efectos negativos sobre la biota, pudiendo acumularse en la cadena trófica, incidiendo en la salud humana al ser parte de su dieta. El objetivo del presente trabajo fue comparar la concentración de mercurio, arsénico, plomo, cadmio, cromo y cobre presente en *Anadara tuberculosa*, *Mytella guyanensis* y *Protothaca asperrima*, procedentes de la zona costera ecuatoriana en la cual desemboca el Río Balao y comparar el efecto de la talla en la concentración de los metales en las especies *A. tuberculosa* y *P. asperrima*. Las muestras fueron adquiridas directamente a pescadores en Puerto Balao; se realizaron muestreos en mayo, junio y julio de 2016. As, Cd, Cu y Cr se analizaron por espectrofotometría de Absorción Atómica con horno de grafito; el Hg con un generador de hidruros y, el Pb mediante polarografía. Los resultados obtenidos muestran la acumulación de Cd, Cr y Cu en los tejidos blandos de los tres tipos de moluscos bivalvos. El As, el Pb y el Hg en la mayoría de muestras analizadas presentan valores inferiores al límite de detección. El contenido de Cd en *A. tuberculosa* supera al de *P. asperrima* y *M. guyanensis*, el Cd en *A. tuberculosa* supera el límite permisible mientras que en las otras dos especies es inferior a lo establecido en la norma de la Unión Europea. El nivel de Cr y Cu tanto en *A. tuberculosa* como *P. asperrima* disminuye al aumentar la talla.

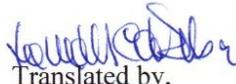
Palabras clave: moluscos bivalvos, metales pesados, bioacumulación, toxicidad.

**ABSTRACT**

The presence of heavy metals in aquatic ecosystems produces negative effects on biota, and can accumulate in the food chain, affecting human health since it is part of people's diet. The objective of this work was to compare the concentrations of mercury, arsenic, lead, cadmium, chromium and copper present in *Anadara tuberculosa*, *Mytella guyanensis* and *Protothaca asperrima*, from the area in the coastal region of Ecuador where the *Balao* River flows into, and compare the size effect in the concentration of metals in *A. tuberculosa* and *P. asperrima* species. The samples were obtained directly from fishermen in Puerto *Balao*. Samples were taken in May, June and July of 2016. As, Cd, Cu and Cr heavy metals were analyzed by graphite furnace atomic absorption spectrophotometry; Hg with a hydride generator, and Pb by polarography. The results show the accumulation of Cd, Cr and Cu in the soft tissues of the three types of bivalve molluscs. As, Pb and Hg in the majority of analyzed samples, present values below the limit of detection. The content of Cd in *A. tuberculosa* exceeds to the one in *P. asperrima* and *M. guyanensis*; the Cd in *A. tuberculosa* exceeds the permissible limit, while in the other two species it is lesser to that established in the European Union standard. The level of Cr and Cu in both *A. tuberculosa* and *P. asprérma* decreases as the size increases.

**Keywords:** Bivalve Molluscs, Heavy Metals, Bioaccumulation, Toxicity.



  
Translated by,  
Lic. Lourdes Crespo

## INDICE DE CONTENIDOS

AGRADECIMIENTOS .....	II
RESUMEN .....	iii
ABSTRACT .....	iv
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
Mercurio .....	2
Arsénico .....	3
Cadmio .....	3
Plomo .....	4
Cromo .....	4
Cobre .....	5
<b>MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>6</b>
Caracterización de la zona de estudio .....	6
Obtención de la muestra .....	8
Preparación de las muestras .....	8
Digestión .....	9
Determinación de los metales .....	9
Método de adición estándar para la determinación polarográfica de plomo .....	11
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>13</b>
Tratamiento estadístico de los datos .....	14
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>17</b>
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>19</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>20</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>25</b>
Glosario .....	25
Matriz de contenido de metales pesados .....	26

**INDICE DE FIGURAS**

Figura 1. Mapa subcuenca del Cantón Balao .....	7
Figura 2. Curva de calibración de Cd por espectrofotometría de absorción atómica, horno de grafito .....	10
Figura 3. Respuesta para la determinación polarográfica de Pb .....	12
Figura 4. Ejemplo de una curva de calibración de plomo por polarografía. Método de Adición Estándar .....	13
Figura 5. Cluster analysis de las muestras de <i>Anadara tuberculosa</i> , <i>Mytella guyanensis</i> , <i>Protothaca asperrima</i> .....	15
Figura 6. Efecto de las variables As (1), Cd (2), Cr (3), Cu (4), Hg (5) y Pb (6) en los cluster .....	16

**INDICE DE TABLAS**

Tabla 1. Descripción taxonómica de las especies estudiadas.....	8
Tabla 2. Programa de digestión en el microondas .....	9
Tabla 3. Límites de detección y de cuantificación para As, Cd, Cr y Cu.....	11
Tabla 4. Concentración media de metales encontrados en <i>Anadara tuberculosa</i> .....	13
Tabla 5. Concentración media de metales encontrados en <i>Mytella guyanensis</i> .....	14
Tabla 6. Concentración media de metales encontrados en <i>Protothaca asperrima</i> .....	14
Tabla 7. Concentración media de los metales encontrados en <i>Anadara tuberculosa</i> , <i>Mytella guyanensis</i> , <i>Protothaca asperrima</i> .....	16
Tabla 8. t de student muestra-población .....	17

**Carrasco Peña Rocío, Webster Coello Rebeca.**

**Trabajo de graduación previo a la obtención del título de Magíster en Gestión Ambiental.**

**Director: Dr. Piercósimo Tripaldi Cappelletti**

**Noviembre 2016**

## **CAPACIDAD BIOACUMULADORA DE METALES PESADOS EN MOLUSCOS BIVALVOS DE LOS ESTEROS DEL CANTÓN BALAO**

### **INTRODUCCIÓN**

El incremento de las actividades humanas, la rápida expansión industrial y el desarrollo de actividades mineras, han provocado un aumento considerable de la cantidad de residuos que descargan al medio ambiente contaminando los ecosistemas acuáticos de ríos y océanos del planeta. La problemática identificada no es ajena en el Ecuador, en donde sus efectos han sido diversos y en muchos casos ni siquiera se tiene fuentes de información confiables que permitan establecer con cierta certidumbre el problema generado, así como su afectación directa con el medio ambiente y salud pública. Si bien han existido esfuerzos puntuales dirigidos a estudiar niveles de contaminación por efectos de la minería artesanal e industrial en la calidad del agua de varias cuencas hidrográficas, éstos han sido insuficientes; en consecuencia, es ineludible la necesidad de realizar monitoreos de otros cuerpos de drenaje natural que cruzan sobre áreas mineras a fin de posibilitar la toma de decisiones encaminadas a proteger nuestros ecosistemas y la salud pública (Calles 2016).

Por lo general la actividad minera genera inestabilidad física del suelo en consecuencia erosión que incrementa la carga sedimentaria de la red fluvial; así como también afecta la calidad química, biológica de los suelos y de la red de drenaje incrementando la solubilidad de los metales pesados en aguas superficiales y subterráneas (Oyarzún y Oyarzún 2011). Para el caso de ríos que atraviesan las concesiones mineras, se incrementa significativamente la movilidad de los metales pesados (Baird y Cann 2014).

La presencia de metales pesados en ecosistemas acuáticos llega a producir efectos negativos sobre la biota acuática al ser altamente persistentes. Su peligrosidad radica en que pueden ser tóxicos en pequeñas concentraciones y también ser acumulados en la cadena trófica, empezando por el fitoplancton, peces, macroinvertebrados, plantas, entre otros, que los incorporan a la cadena alimenticia; pudiendo llegar a producir efectos de biomagnificación en los niveles más altos cuando son parte de la dieta del ser humano (Acosta y Lodeiros 2004).

La toxicidad que generan los metales depende de las características físico-químicas de cada elemento metálico en cuestión, pero se ve modificada por el tipo de compuesto que formen, orgánico o inorgánico y sus características de hidro o liposolubilidad (Ferrer 2003). Las biomoléculas más afectadas por los metales son las enzimas que controlan la velocidad de las reacciones metabólicas fundamentales en el cuerpo humano (Baird y Cann 2014); siendo los principales sistemas afectados el gastrointestinal, sistema nervioso central y periférico, hemático, renal y hepático (Ferrer 2003).

Los metales más peligrosos tanto para el ecosistema marino como para la población por sus características de toxicidad incluso en concentraciones muy bajas, persistencia y bioacumulación son los llamados metales pesados (Corral et al 2000); como el cadmio, plomo, cromo, mercurio y arsénico que presentan los mayores riesgos ambientales debido a su toxicidad, su persistencia medioambiental y su amplia distribución, mientras otros, como el cobre, son requeridos para un buen funcionamiento de los procesos bioquímicos de los seres vivos pero eventualmente pueden llegar a ser tóxicos si superan ciertos niveles de concentración (Baird y Cann 2014). Los efectos tóxicos de los metales pesados no son detectables a corto plazo, pero si a mediano y largo plazo. Su eliminación es difícil, ya que los organismos los incorporan a sus tejidos y de éstos a sus depredadores, incluyendo el ser humano, en donde se manifiesta su toxicidad (Rojas 2011).

La exposición a los elementos metálicos se produce cuando la población entra en contacto directo con el agua, los alimentos o el medio ambiente contaminado (Ferrer 2003). El aporte de estos metales al ciclo hidrológico procede de diversas fuentes, siendo una de ellas de origen geoquímico a partir de los minerales que, por causas de erosión, lluvias, entre otras, son arrastradas por escorrentías; sin embargo, actualmente la mayor concentración es de origen antropogénico por la minería, los procesos industriales y los residuos domésticos (Rosas 2001).

### **Mercurio**

El mercurio forma parte de un problema global debido a que sus vapores son extremadamente tóxicos y volátiles y los compuestos organomercuriales pueden llegar a viajar largas distancias en la atmósfera; sus iones son depositados cuando ocurren precipitaciones. Las principales fuentes medioambientales de mercurio elemental son los procesos naturales de volatilización del mercurio a partir de depósitos minerales, volcanes y otros fenómenos de tipo volcánico, como las fumarolas o las fuentes termales (Moreno 2003).

El mercurio puede mobilizarse a través del ciclo biogeoquímico natural llevado a cabo en la biósfera mediante procesos por erosión de rocas y minerales y arrastre con la escorrentía superficial por suspensión de las partículas húmicas por el agua, por la reducción química o biológica a mercurio elemental o viajar también en una matriz orgánica. La mayor contaminación del mercurio elemental se ha constatado en especies acuáticas, tanto de agua dulce como marina

por su tendencia a transformarse a partir de su forma inorgánica a su forma orgánica, como metilmercurio que puede ingresar al tejido biológico, como consecuencia, se genera una acumulación de esta forma química produciendo una bioconcentración y una biomagnificación a lo largo de la cadena trófica (Palacios 2008).

Las distintas formas de absorción de los compuestos químicos del mercurio pueden ocasionar severos efectos sobre la fisiología humana provocando problemas en el sistema nervioso central y cerebro como temblores, pérdida de la memoria, delirios y alucinaciones; problemas renales, cambios enzimáticos, efectos teratogénicos, entre otros (Baird y Cann 2014).

### **Arsénico**

Las fuentes naturales del arsénico son tanto naturales (emanaciones volcánicas, lixiviaciones de rocas y liberación de acuíferos subterráneos que afloran al exterior) como antropogénicas (labores de minería, combustión de fósiles, extracción de metales preciosos, etc.). Según Mateos (2011) en su forma inorgánica tiende a adsorberse en la materia en suspensión, sedimentos, y fracción sólida del suelo de aguas superficiales y subterráneas; siendo mayor en aguas ácidas y neutras cuando se encuentra en su forma oxidada.

Al igual que el mercurio, el arsénico experimenta bioconcentración en organismos acuáticos, pero sin tendencia a la biomagnificación en la cadena trófica. La exposición crónica al arsénico produce efectos adversos sobre la piel, el sistema nervioso y el hígado; en casos agudos puede ser letal y existen evidencias suficientes sobre sus efectos cancerígenos en las personas (Baird y Cann 2014). La toxicidad para el hombre depende en gran medida de la forma química en que sea ingerido; los compuestos orgánicos que se encuentran en concentraciones elevadas de forma natural en pescados, moluscos y crustáceos son menos tóxicos que las formas inorgánicas (Baird y Cann 2014).

### **Cadmio**

Es liberado al ambiente a partir de ciertas industrias y constituye una impureza común en la extracción de ciertos metales como el zinc. Su movilidad en el medio ambiente es mayor que de los otros metales debido a la solubilidad de sus sales e hidróxidos. Es un metal bioacumulativo en organismos terrestres y acuáticos (Moreno 2003). El cadmio es un metal que se incorpora en todos los niveles de la cadena alimenticia, desde los microorganismos hasta los humanos, la principal fuente de cadmio para los seres humanos proviene particularmente los mariscos y las vísceras (Baird y Cann 2014). Presenta efectos tóxicos, agudos y crónicos produciendo alteraciones en el esqueleto, pulmonares, renales, degeneración de articulaciones y deficiencia reproductiva. También se lo considera como un agente cancerígeno.

## **Plomo**

Es un metal tóxico altamente localizado en el suelo y en aguas procedentes de fuentes naturales especialmente en zonas con aguas blandas y ácidas; con frecuencia se encuentra en la naturaleza en forma de sulfuros, asociado a otros metales como Ag, Cu, Zn, Fe y Sb; se transporta en el aire como material particulado a distancias considerables desde su lugar de emisión depositándose luego por gravedad en el suelo; cuando el suelo presenta pH ácido el plomo se lixivia hacia las capas profundas del subsuelo y aguas subterráneas (Mero 2010). Aunque la forma elemental no supone un problema ambiental en la mayoría de organismos vivos, el plomo produce preocupación cuando se disuelve para dar lugar a una especie iónica (Baird y Cann 2014). Cuando forma compuestos orgánicos éstos tienden a oxidarse inmediatamente en presencia del oxígeno evitando su salida hacia la atmósfera.

Las plantas y algunos organismos acuáticos pueden bioconcentrar al plomo sin biomagnificación en la cadena trófica. Los efectos contaminantes del plomo en los seres humanos se manifiestan con problemas gastrointestinales, neuronales, hematológicos, renales y reproductivos; también se lo considera como agente cancerígeno y teratogénico (Moreno 2003).

## **Cromo**

Es un elemento identificado como un micronutriente esencial y como un agente cancerígeno, dependiendo de su forma química. El proceso de acumulación del cromo en el medio ambiente ya sea por fuentes naturales o antropogénicas, puede producirse en el aire, aguas superficiales, sedimentos, aguas subterráneas, suelos y seres vivos. Los niveles de contaminación del cromo dependen de las formas moleculares en las que se encuentre, pudiendo ser en estados biológicos activos en forma trivalente y hexavalente; la forma hexavalente es la que presenta mayor toxicidad para todas las formas de vida (Arauzo et al. 2003).

Su presencia en el medioambiente se relaciona con actividades industriales, principalmente sus fuentes de emisiones son la industria del acero y las centrales térmicas encontrándose en forma particulado y según el tamaño y densidad puede permanecer en el aire durante períodos largos y a grandes distancias de los focos de emisión. Cuando se deposita en suelos o aguas superficiales se encuentra en forma insoluble, formando precipitados o adsorbido a la fracción sólida de los suelos y sedimentos por lo que su movilidad es muy limitada. No presenta tendencia a la bioconcentración en organismos acuáticos. Entre los efectos que causa en el ser humano se encuentran las enfermedades pulmonares, lesiones renales, úlceras, necrosis de tejidos y diferentes tipos de cáncer cuando su exposición es por inhalación (Moreno 2003).

## Cobre

El cobre se encuentra concentrado en los yacimientos mineros en forma de minerales sulfurados y oxidados; en el medio ambiente generalmente tiende a formar enlaces con los componentes sólidos de los suelos y sedimentos, y al disolverse se encuentra en forma de complejos de carbonatos y bicarbonatos (Moreno 2003).

Estudios realizados indican que, con excepción de los moluscos filtrantes, el cobre presenta poca tendencia a la bioconcentración y no está sujeto a la biomagnificación en la cadena trófica; su absorción causa problemas hepáticos y de la médula ósea en los humanos (Moreno 2003).

Desde el punto de vista ambiental, el empleo de organismos indicadores para evidenciar la contaminación es de suma importancia ya que permite un diagnóstico del estado de los ecosistemas mucho antes que si se realizara el monitoreo directamente en muestras abióticas, facilitando la toma de medidas para su protección (Argota 2012).

Según Gutiérrez et al. (1999), los organismos recomendados para biomonitorizar la contaminación ambiental deben reunir ciertas características como el sedentarismo, ser representativos de una amplia área, ser suficientemente longevos, tolerar amplios rangos de salinidad y proporcionar suficiente tejido para análisis químico, características que cumplen los moluscos. Entre las características de los moluscos que les hacen ideales para biomonitoreo está la capacidad de bioacumular los contaminantes a partir del alimento y del sedimento, ya que las tasas de absorción y excreción les permiten retener en su cuerpo concentraciones de contaminantes que exceden a las encontradas en el medio ambiente (Massone y Martínez 2008). Para tal efecto los moluscos bivalvos (conchas, mejillones y almejas) permiten evaluar la calidad de las cuencas hidrográficas ya que por su condición de organismos filtradores que acumulan químicos a través del bombeo de agua son los más impactados por los contaminantes y, por su condición de organismos sésiles, son fácilmente monitoreables (Zambrano et al. 2012).

Varios estudios sobre la bioacumulación en bivalvos indican que el nivel del elemento contaminante está influenciado por parámetros tales como el período de muestreo, talla del organismo y condición corporal; sin embargo, Díaz et al. (2001) al estudiar la influencia de variables estacionales, espaciales, biológicas y ambientales en la bioacumulación de mercurio total y metil mercurio en *Tagelus dombeii* concluyen que no existe una relación directa entre el peso y la talla de los individuos con su capacidad para bioacumular, lo relacionan más bien con el período en el cual fueron recolectados, así como con la edad.

Los metales pesados se han asociado con una serie de modificaciones y adaptaciones fisiológicas de los moluscos, evidenciándose que su bioacumulación depende, además de la concentración de los mismos en agua y sedimentos y del tiempo de exposición, de factores como su movilización en aguas intersticiales y forma química, entre otros (Baqueiro et al. 2007).

Nuestro estudio busca comparar la concentración de mercurio, arsénico, plomo, cadmio, cromo y cobre presente en muestras de tres especies de moluscos bivalvos: *Anadara tuberculosa* (concha prieta), *Mytella guyanensis* (mejillón) y *Protothaca asperrima* (almeja), procedentes de la zona costera ecuatoriana en la desembocadura del Río Balao y que son productos de consumo diario de la población de Balao y otras comunidades aledañas; además conocer el efecto de la talla en la concentración de los metales en las especies *A. tuberculosa* y *P. asperrima*.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Caracterización de la zona de estudio**

El cantón Balao perteneciente a la provincia del Guayas comprende una superficie total de 468,8 km<sup>2</sup> y cuenta con una población de 20523 habitantes (INEC 2010). Limita al Norte por el cantón Naranjal desde la desembocadura del río Jagua en el canal de Jambelí hasta la confluencia de sus ríos formadores Blanco e Inil; al Sur con las parroquias Molleturo y Chaucha del cantón Cuenca y el Carmen de Pijilí del cantón Santa Isabel, provincia del Azuay; al Este con el curso del río Gala en la parroquia Camilo Ponce Enríquez del cantón Santa Isabel y la parroquia Tenguel; y al Oeste con la afluencia del río Gala en el canal de Jambelí hasta la influencia del río Jagua (SENPLADES 2015).

El acceso a la zona urbana de Balao, que es la cabecera cantonal, se lo realiza a través de la vía principal que se encuentra pavimentada, conectándose con tres zonas consolidadas: San José, Santa Rita y San Carlos; cuenta también con 17 centros poblados a los que se ingresa por un camino de segundo orden. Los poblados se encuentran distribuidos por todo el territorio del cantón, los mismos que se encuentran asentados a lo largo de las vías (PDOT 2015).

Los valores medios mensuales de precipitaciones en el cantón Balao definidos según los datos proporcionados por las estaciones meteorológicas Puna y Naranjal señalan los meses de enero, febrero, marzo y abril como época lluviosa, con una temperatura promedio anual de 25,35° C; los meses de enero hasta mayo presentan las temperaturas más altas, mientras que los meses de julio hasta septiembre, corresponden a la época seca y son los que presentan valores ligeramente más bajos con respecto a la media anual; las variaciones mensuales de las temperaturas no son significativas ya que su amplitud está alrededor de 2°C (SENPLADES 2013).

El cantón cuenta con tres importantes cuencas hidrográficas que parten de la cordillera de los Andes, corren en forma paralela y desembocan en el canal de Jambelí; estos ríos son el Jagua que delimita al cantón por la zona norte, con el cantón Naranjal; el río Gala limita al cantón Balao

con la parroquia de Tenguel en la parte sur; y el río Balao Grande considerado como doble intermitente que atraviesa el territorio de este a oeste al cantón con una superficie de 256,60 Ha (PDOT 2015). En general, estos ríos constituirían una de las principales vías de acceso de los metales contaminantes hacia la zona de recolección de las muestras estudiadas.

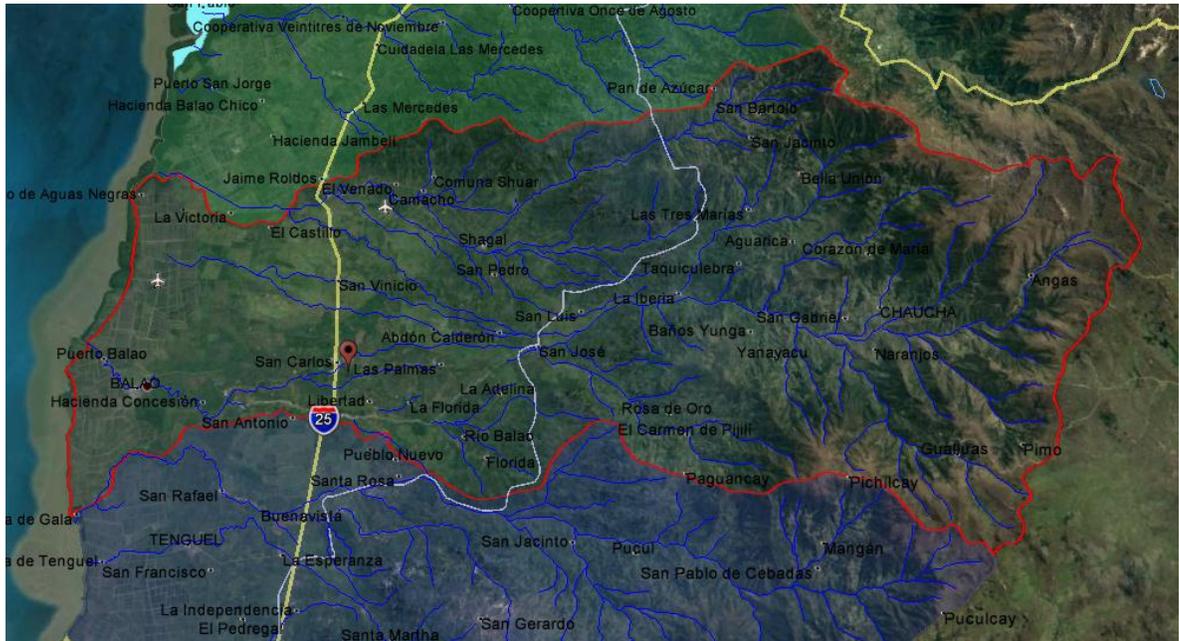


Figura 1. Mapa subcuenca del Cantón Balao

Fuente: Instituto de Estudios del Régimen Seccional del Ecuador - UDA.

Balao posee suelos fértiles y entre las principales actividades productivas del cantón se encuentra la agropecuaria, destacándose la producción de cacao, banano, arroz, maíz, yuca, tomate y frutas tropicales; árboles maderables como el balao, el guayacán, el laurel y la balsa (PDOT 2015). Las principales actividades económico-productivas del cantón son la pesca, actividad acuícola y la actividad agrícola.

Como toda zona costera, el cantón Balao posee zonas de manglar que rodean a las zonas camaroneras (MAE/COPADEC 2007); Puerto Balao es centro de descarga de los productos de la pesca artesanal de especies como bagre, tilapia, robalo, corvina, jaibas, conchas, mejillones, ostiones, camarón y especialmente, cangrejo de mangle (SENPLADES 2013), siendo la actividad más importante la relacionada con las camaroneras cuya producción se comercializa en el exterior, especialmente a Estados Unidos (SENPLADES 2015).

Para las comunidades asentadas en las zonas de ecosistemas de manglar, la captura de ciertos moluscos bivalvos representa una actividad significativa, cumpliendo también un rol importante en la alimentación, y en la generación de ingresos y empleo (Jaramillo 2016), entre estos moluscos se encuentran: *Anadara tuberculosa* (concha prieta), el mejillón (*Mytella guyanensis*) y

la almeja (*Protothaca asperrima*), especies que hemos seleccionado para nuestro estudio por su presencia en los esteros del Cantón Balao.

Tabla 1. Descripción taxonómica de las especies estudiadas

		
<b><i>Anadara tuberculosa</i></b> <b>(Sowerby 1833)</b>	<b><i>Mytella Guyanensis</i></b> <b>(Lamarck 1819)</b>	<b><i>Protothaca asperrima</i></b> <b>(Sowerby 1835)</b>
Phylum: Mollusca	Phylum: Mollusca	Phylum: Mollusca
Clase: Bivalvia	Clase: Bivalvia	Clase: Bivalvia
Orden: Arcoida	Orden: Mytiloida	Orden: Veneroida
Familia: Arcidae	Familia: Mytilidae	Familia: Veneridae
Género: Anadara	Género: Mytella	Género: Protothaca
Especie: <i>Anadara tuberculosa</i>	Especie: <i>Mytella guyanensis</i>	Especie: <i>Protothaca asperrima</i>

Fuente: World Register of Marine Species (2016).

### Obtención de la muestra

Las muestras de conchas, mejillones y almejas en fresco fueron adquiridas directamente a pescadores de la zona de Puerto Balao, luego de la temporada lluviosa de la costa ecuatoriana, considerando que la época de captura preferida es de junio a noviembre (Cruz y Mair 2009). Para cada una de las especies se realizaron tres muestreos de cada especie; un primer muestreo se realizó a finales del mes de mayo, el segundo a finales de junio y el tercero a finales de julio. Se seleccionaron 20 individuos de talla homogénea por cada muestreo.

Tomando como referencia la metodología utilizada por Gil et al. (2006) y por Gutiérrez et al. (1999), las muestras se lavaron y colocaron en bolsas de plástico con cierre hermético, etiquetadas y almacenadas a -20°C, por un lapso aproximado de 24 horas hasta su análisis en el laboratorio de la Universidad del Azuay, UDALAB.

### Preparación de las muestras

Las muestras se descongelaron y se realizó una selección de 20 individuos por cada especie de molusco. Previo lavado con agua desionizada, las partes blandas de los individuos seleccionados para cada una de las especies, se homogenizaron en un molino de alimentos marca IKA-WERKE,

modelo M20, para formar muestras compuestas y reducir la variación individual del contenido de metales; luego se separaron 5 submuestras para el correspondiente análisis químico.

### **Digestión**

La digestión del tejido se realizó sobre 5 g de muestra con 10 ml de HNO<sub>3</sub>, según las recomendaciones del Manual de Análisis de Alimentos y productos relacionados de la FDA (2014), colocándoles en tubos de teflón en un horno microondas marca CEM, modelo MARS6. Posteriormente las muestras fueron diluidas a 100 ml con agua desionizada.

**Tabla 2. Programa de digestión en el microondas**

<b>Digestión</b>	<b>Condiciones</b>
Temperatura inicial	29 °C
Temperatura final	160 °C
Tiempo de la rampa	15 minutos
Tiempo de permanencia	20 minutos

Fuente: los autores

### **Determinación de los metales**

Para la determinación de los metales, As, Cd, Cu y Cr las soluciones obtenidas en la digestión se analizaron en un espectrofotómetro de Absorción Atómica marca Thermo Scientific, modelo ICE 3000 con horno de grafito, equipado con un inyector automático, siguiendo el manual de operación del instrumento.

Para la determinación de Hg se utilizó un generador de hidruros marca Thermo Scientific, modelo VP 100. La sensibilidad del método es alrededor de 1 ppb y es utilizado para determinar Hg en alimentos, minerales y muestras ambientales.

El Plomo fue determinado mediante polarografía, utilizando un polarógrafo marca AMEL, modelo 433, mediante el método de adición estándar.

Para la determinación de cada metal se realizó una curva de calibración utilizando sustancias patrones, curvas que luego permitieron la cuantificación de los metales en las muestras y su límite de detección y determinación (Ver figura 2).

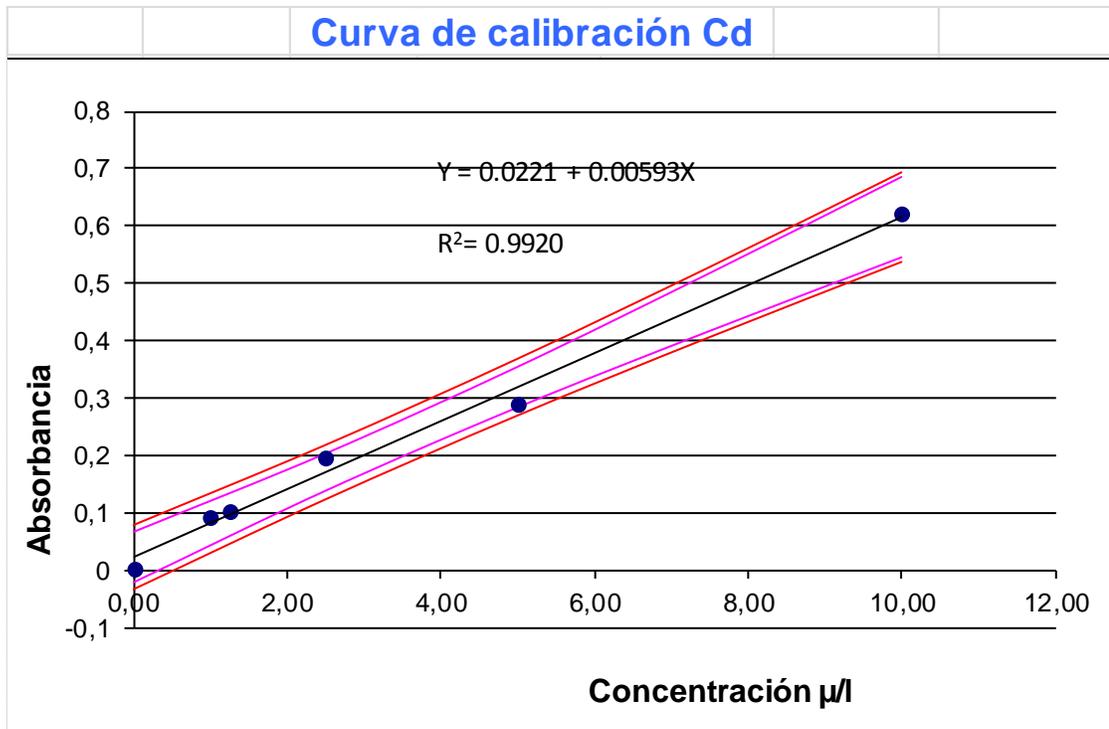


Figura 2. Curva de calibración de Cd por espectrofotometría de absorción atómica, horno de grafito.

La figura 2 presenta las bandas de calibración a un nivel de confianza del 90%, nos indica los límites en los cuales pueden encontrarse cada uno de los valores correspondientes a la recta de calibración obtenida, en este caso, por el método de mínimos cuadrados.

Todos los métodos instrumentales tienen un grado de ruido asociado con la medición que limita la cantidad de analito que se puede detectar; el ruido se refleja en la precisión de las réplicas del blanco o señal de fondo, de aquí que se puede hablar de un límite de detección definido como aquella concentración de analito que proporciona una señal en el instrumento significativamente diferente de la señal del blanco o ruido de fondo (Miller y Miller 2002); es decir la concentración más baja de un analito que el proceso analítico detecta en forma confiable (Gary 2009).

El límite de detección es la concentración que da una señal igual a tres veces la desviación estándar del ruido de fondo.

$$\text{LOD} = 3 (s/S)$$

Donde:

s es la desviación estándar de la respuesta.

S es la pendiente o sensibilidad de la curva de calibración a niveles que tienden al límite.

El límite de cuantificación (LOQ) se considera como el límite inferior para medidas cuantitativamente precisas y está dado por.

$$\text{LOQ} = 10(s/S)$$

La tabla 3 indica los límites de detección y cuantificación calculados para cada uno de los métodos utilizados.

Tabla 3. Límites de detección y de cuantificación para As, Cd, Cr y Cu. Espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito.

Metal	Límite de detección		Límite de cuantificación	
	Y (A)	X = µg/Kg	Y (A)	X = µg/Kg
As	0,174	18,057	0,138	14,308
Cd	0,134	1,889	0,160	2,330
Cr	0,012	0,271	0,013	0,310
Cu	0,015	0,562	0,014	0,511
Hg	0,087	8,684	0,074	6,863

Fuente: los autores

#### Método de adición estándar para determinación polarográfica de plomo

A una alícuota simple de muestra (0,5 ml de la solución de digestión del molusco), se añade una alícuota de 20 ml de electrolito de soporte (KNO<sub>3</sub> 0,1M). En seguida se efectúan adiciones crecientes del estándar 10 ppm Pb (50 µl cada vez), registrando cada vez el voltamograma relativo, y finalmente se pasa a realizar los cálculos respectivos, a saber:

Cálculo de resultados:

$$C\alpha = \frac{Vst \cdot Cst}{Vx}$$

donde *Vst* y *Cst* son el volumen en ml y la concentración de la solución estándar añadida respectivamente y *Vx* el volumen de la muestra.

Para cada adición se calcula también el factor relativo de dilución (d):

$$d = \frac{Vtot}{Vx} = \frac{Vx + Vst + Vr}{Vx}$$

Donde *Vr* es el volumen del electrolito de soporte.

En el voltamograma se observan picos cuya altura es proporcional a la concentración del analito. Para los cálculos se debe multiplicar cada altura del pico por el factor de dilución obteniéndose una altura corregida.

Finalmente se reportan sobre un gráfico los valores de concentración añadida en función de la altura relativa corregida. El punto de corte de la recta obtenida con la abscisa hacia el lado negativo en la escala corresponde a la concentración del analito en la muestra.

A continuación, se presenta un ejemplo de la respuesta obtenida en el polarógrafo para la determinación de Pb y la curva de calibración correspondiente, para una muestra de almeja (ver figura 3).

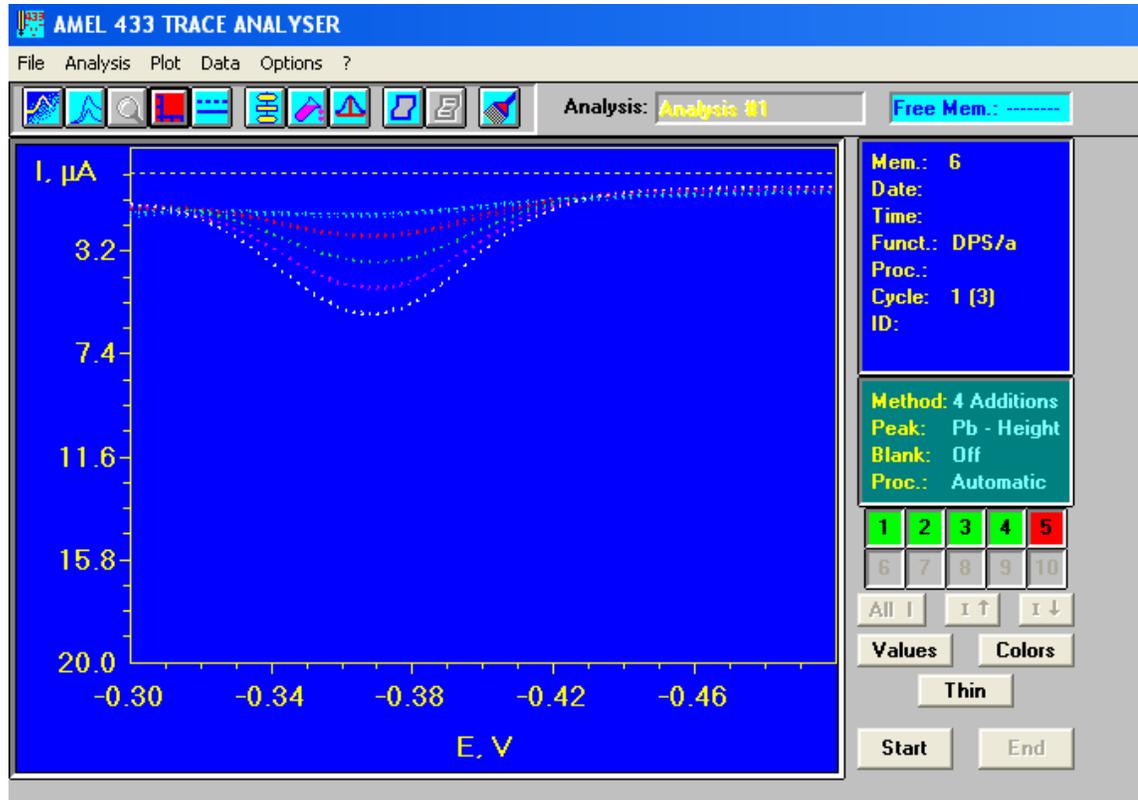


Figura 3. Respuesta para la determinación polarográfica de Pb

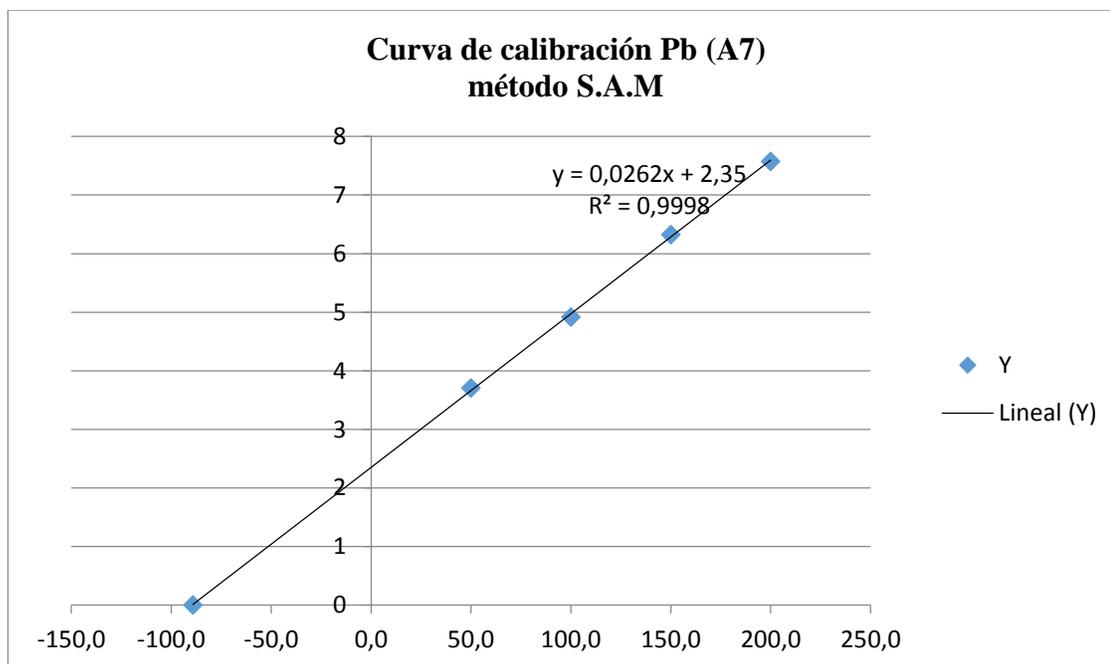


Figura 4. Ejemplo de una curva de calibración de plomo por polarografía.  
Método de adición estándar.

## RESULTADOS

Los resultados obtenidos en los análisis de las tres especies de moluscos analizadas se detallan en las tablas 4, 5 y 6; las siglas ND son utilizadas para indicar que los valores obtenidos están bajo el límite de detección (ver tabla 3).

Tabla 4. Concentración media de metales encontrados en *Anadara Tuberculosa* (concha prieta)

Muestreo	As mg/Kg	Cd mg/Kg	Cr mg/Kg	Cu mg/Kg	Hg mg/Kg	Pb mg/Kg
Primero						
Talla 4,5 x 4,0 cm	ND	1,86	0,30	22,61	0,23	0,23
Segundo						
Talla 5,5 x 4,2 cm	ND	2,54	0,56	16,82	0,36	0,04
Tercero						
Talla 5,9 x 4,3 cm	ND	2,03	0,43	6,60	0,03	0,07

Fuente: los autores

Tabla 5. Concentración media de metales encontrados en *Mytella guyanensis* (mejillón)

Muestreo	As mg/Kg	Cd mg/Kg	Cr mg/Kg	Cu mg/Kg	Hg mg/Kg	Pb mg/Kg
Primero Talla 6,0 x 1,7 cm	ND	0,08	0,51	21,05	ND	ND
Segundo Talla 6,0 x 1,7 cm	ND	ND	0,76	31,07	ND	ND
Tercero Talla 6,0 x 1,7 cm	ND	0,17	0,44	31,78	ND	ND

Fuente: los autores

Tabla 6 Concentración media de metales encontrados en *Protothaca asperrima* (almeja)

Muestreo	As mg/Kg	Cd mg/Kg	Cr mg/Kg	Cu mg/Kg	Hg mg/Kg	Pb mg/Kg
Primero Talla 2,4 x 2,2 cm	ND	0,53	1,86	16,34	ND	0,45
Segundo Talla 2,9 x 2,6 cm	0,08	0,56	0,54	15,17	ND	0,52
Tercero Talla 4,2 x 3,5 cm	0,14	0,52	0,35	10,62	ND	0,23

Fuente: los autores

### Tratamiento estadístico de los datos

Los resultados fueron analizados estadísticamente utilizando la cluster analysis, un método jerárquico aglomerativo que parte de objetos individuales para ir construyendo conglomerados cada vez más complejos hasta concluir en uno solo. Este método se basa en el cálculo de una matriz de distancias o similitudes a partir de la que se construye una jerarquía (Massart et al. 1997); la distancia más usada es la euclidiana. Para formar los conglomerados o cluster se empieza considerando que cada objeto forma un conglomerado de tamaño uno y compara las distancias entre ellos, los dos puntos que se encuentran más próximos se unen para formar un nuevo conglomerado; las distancias entre los conglomerados se comparan nuevamente y se combinan los que se encuentren más próximos. Este procedimiento se repite hasta agrupar todos los puntos (Miller y Miller 2002); estos grupos se representan mediante un gráfico conocido como dendrograma (ver figura 5) en donde el eje vertical indica la distancia entre dos objetos o la similitud entre ellos y el eje X los objetos o muestras.

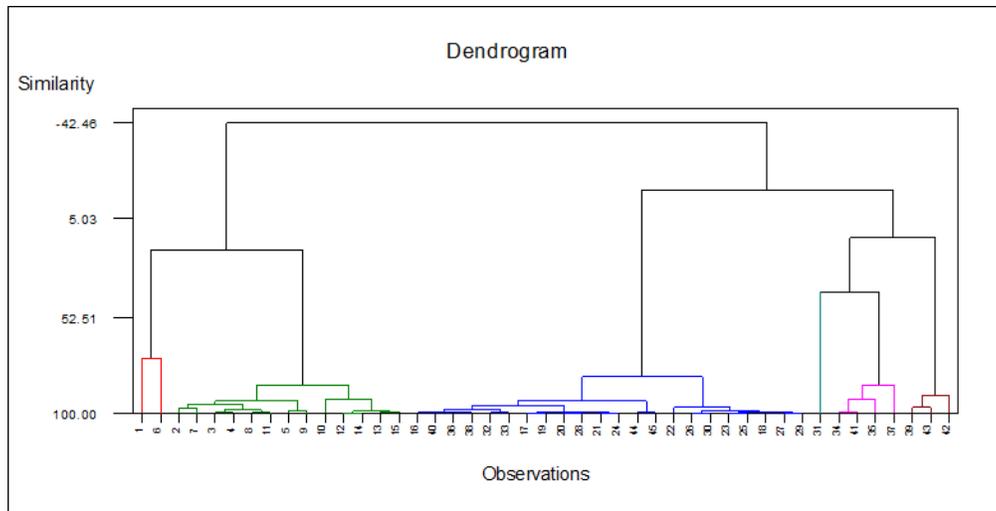


Figura 5. Cluster analysis de las muestras de *Anadara tuberculosa*, *Mytella guyanensis* y *Protothaca asperrima*.

El dendrograma fue realizado utilizando la matriz que consta en anexos, indicando la presencia de 6 cluster o conglomerados; analizados de izquierda a derecha: el primero formado por dos objetos que corresponden a *A. tuberculosa*; un segundo gran conglomerado formado por 13 objetos, todos ellos correspondientes a muestras de *A. tuberculosa*; el tercero lo conforman 22 objetos de los cuales 15 son muestras de *M. guyanensis* y 7 de *P. asperrima* que presentan un comportamiento no acorde con el quinto y sexto grupo que corresponden a muestras de *P. asperrima*; y, finalmente se observa una muestra de *P. asperrima* aislada que corresponde al cuarto grupo.

La figura 6 nos indica cómo influyen cada una de las variables analizadas en los grupos obtenidos mediante el cluster analysis. Para el grupo uno tenemos que el As, Cr y Pb son bajos mientras que los otros metales son más significativos; el grupo dos se caracteriza por tener el Cd y el Hg ligeramente elevados mientras todos los demás metales se mantienen bajos o bajo el nivel de detección; en el grupo 3 prácticamente el único metal con cierto nivel de Cu; la muestra de almeja que aparece en el dendrograma aislada del resto se caracteriza por tener un nivel bastante elevado de Cr mientras los demás metales se encuentran a niveles bajos; la concentración de Pb permite agrupar a las almejas del grupo 5, 6 y 4.

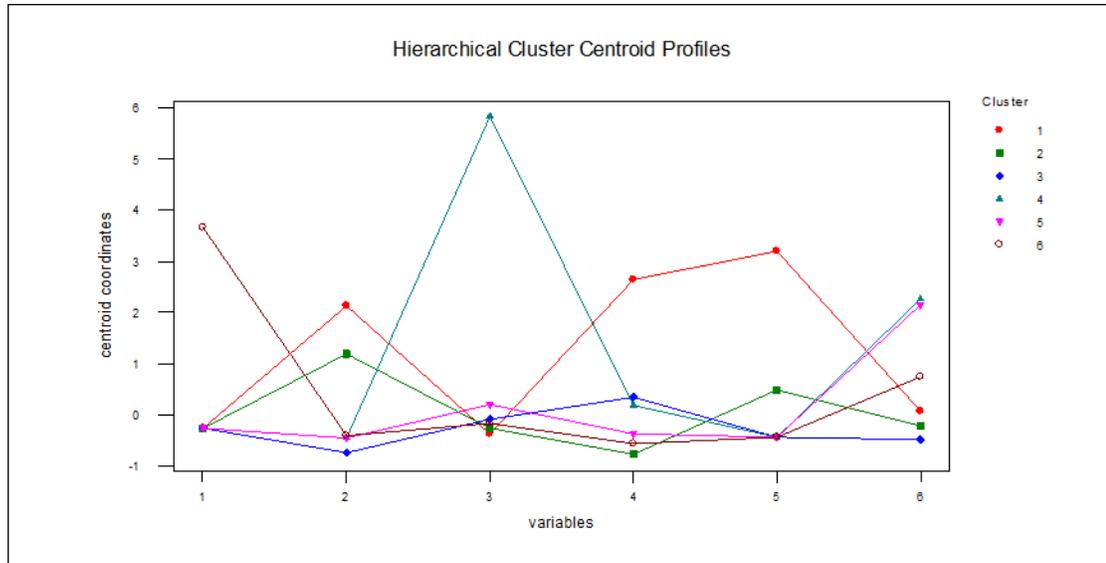


Figura 6. Efecto de las variables As (1), Cd (2), Cr (3), Cu (4), Hg (5) y Pb (6) en los cluster.

Tabla 7. Concentración media de los metales encontrados en *A. tuberculosa*, *M. guyanensis* y *P. asperrima*.

Metal	<i>A. tuberculosa</i>	<i>M. guyanensis</i>	<i>P. asperrima</i>
As mg/Kg	ND	ND	0,07
Cd mg/Kg	2,14	0,08	0,54
Cr mg/Kg	0,43	0,57	0,92
Cu mg/Kg	15,97	27,97	14,05
Hg mg/Kg	0,21	ND	ND
Pb mg/Kg	0,01	ND	0,40

Fuente: los autores

Sobre los valores promedios de la concentración de metales en los tres tipos de moluscos presentados en la tabla 7 se aplicó la prueba de contraste de significación, con el propósito de contar con criterios estadísticos para determinar si estos promedios son significativamente diferentes o no a los límites permisibles proporcionados por las diferentes legislaturas ambientales; dicha prueba de contraste es el estadístico t, calculado según la fórmula:

$$t \text{ exp} = \frac{X - \mu}{\sqrt{\frac{N}{S}}}$$

donde:

t exp      valor de t de student calculado con los datos experimentales.

X            concentración promedio

- $\mu$  Límite permisible  
 N número de datos  
 s desviación estándar

Tabla 8 t de student muestra-población

Especie	t crit <sub>95%</sub>	Pb		Cd		Cr		Cu		Hg	
		t exp	Límite Permisible mg/Kg								
<i>A. tuberculosa</i>	1,76	32,04	1,50	1,70	1,00	3,71	0,10	3,27	30,00	4,99	0,50
<i>M.guyanensis</i>				64,23		7,94		1,96			
<i>P. asperrima</i>		8,08		72,52		2,70		11,70			
t crit <sub>95%</sub>	valor de t criterio a un 95% de confianza										

Fuente: los autores

Según la tabla 8 podemos concluir que, si t experimental es superior a t crítico, las concentraciones promedio obtenidas en los análisis se encuentran bajo los límites permisibles tomados como referencia. Debido a que el Ecuador no cuenta con una normativa ambiental que establezca los límites permisibles en relación al contenido de metales en moluscos bivalvos, tomamos como referencia para el Cd y Pb, la normativa ambiental de la Unión Europea, Reglamento No. 1881/2006 que fija como límite máximo para el Cd 1 mg/Kg y para el Pb 1,5 mg/Kg en peso fresco. Para el As inorgánico se toma como referencia el límite de 1 mg/Kg y para el Hg 0,5 mg/Kg, según la legislación australiana y neozelandesa de metales pesados. Para el Cu la legislación brasileña indica una tolerancia de 30 mg/Kg y 0,10 mg/Kg para el Cr en cualquier alimento.

## DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran la acumulación de Cd, Cr y Cu en los tejidos blandos de las tres especies de moluscos bivalvos procedentes de las localidades de la región costera de Balao. El As, el Pb y el Hg en la mayoría de muestras analizadas presentan valores inferiores al límite de detección, estos bajos niveles de concentración de probablemente reflejen los niveles naturales para estas regiones y en general para áreas libres de contaminación (Corral et al. 2000).

Se observa que la concentración de Pb encontrada en *A. tuberculosa* y *P. asperrima* se encuentra bajo el límite de detección instrumental, contrastando con resultados obtenidos por Siguenza (2016) que arrojan valores promedio de 0.123 mg/Kg de Pb en concha prieta extraída de la desembocadura del Río Pital, provincia de El Oro. La almeja analizada en nuestro trabajo presenta un promedio de 0,40 mg/Kg, inferior al límite permitido en el reglamento 1881/2006 de la Unión Europea que es de 1,5 mg/Kg. Rodríguez (2013) reporta un contenido de Pb de 1,40

mg/Kg en *M. guyanensis* recolectados en los puentes Portete y 5 de junio del estero Salado en el cantón Guayaquil.

El contenido de Cd en *Anadara tuberculosa* encontrado en nuestro trabajo es superior al de *Protothaca asperrima* y *Mytella guyanensis*, presentando concentraciones promedias de 2.14 mg/Kg, 0.54 mg/Kg y 0.08 mg/Kg respectivamente, superando la concha el límite permisible mientras que los mejillones y la almeja se encuentran bajo este límite indicado por la norma de la Unión Europea que considera un límite máximo de 1 mg/Kg sobre peso fresco. Estudios realizados en la zona del archipiélago de Jambelí, Bajo Alto y Puerto Hualtaco presentan valores de Cd en concha ligeramente inferiores a los encontrados en nuestra investigación (Ordoñez 2015); Siguenza (2016) en su trabajo de determinación de metales pesados en Concha Prieta obtenida de la desembocadura del río Pital encuentra una concentración promedio de 0,28 mg/Kg.

Las concentraciones de Cu encontradas en los tres tipos de moluscos indican la mayor capacidad de acumulación de metales esenciales comparados con los no esenciales; dicha tendencia se justifica porque los metales esenciales actúan como componentes estructurales indispensables para el crecimiento y tienden a incrementarse con el tiempo de exposición y la talla del organismo, por lo que los moluscos no son considerados como buenos indicadores de cobre en el medio ambiente (Acosta y Lodeiros 2004).

El nivel de cobre en las conchas disminuye al aumentar la talla en la siguiente forma: 22,61 mg/Kg para individuos con talla promedio de 4,5 x 4 cm; 16,82 mg/Kg para los de talla 5,5 x 4,2 cm y 6,60 mg/Kg para los de talla 5,9 x 4,3 cm; de igual manera sucede con las almejas presentando una concentración de 16,34 mg/Kg en los individuos de talla 2,4 x 2,2 cm; 15,17 mg/Kg para los de talla 2,9 x 2,6 cm y 10,62 mg/Kg para los de talla 4,2 x 3,5 cm. En los mejillones se mantiene un rango estrecho de concentración en los tres muestreos ya que el tamaño de los mismos fue bastante homogéneo.

El cromo presenta una concentración de 0,43 mg/Kg en conchas; 0,57 mg/Kg en los mejillones y 0,92 mg/Kg en las almejas, sugiriendo una mayor capacidad de bioacumulación en las almejas en relación a las otras especies, pudiendo justificarse por el hecho de que estas tres especies tienen diferente hábitat. Así, la *A. tuberculosa* es un bivalvo que en su fase adulta habita solo en pantanos de manglares siempre asociada al mangle en la zona intermareal donde vive casi completamente enterrada en el fango; el *M. guyanensis* se distribuye en la zona media de entre mareas a la orilla de los canales que desaguan el manglar; también se localiza en sustratos con arena y limo o con grava y arena (Sibaja y Villalobos 1985); y la *P. asperrima* se encuentra en lodo con rocas y conchas en estuarios y en la parte externa de los manglares (Ramos et al. 2012).

La disminución de la concentración de Cr y Cu en conchas y almejas conforme aumenta su talla es análogo a lo encontrado en los estudios de Senior (2015) sobre la concentración de plomo encontrado en *A. tuberculosa* y la relación con la talla en individuos obtenidos en los mercados de la ciudad de Machala, lo cual lo explica como el fenómeno conocido como “dilución biológica”, en el que el crecimiento del tejido del bivalvo es más rápido que la incorporación del metal, donde los moluscos más jóvenes retienen mayor cantidad de los metales mientras que los mayores al entrar en la fase de la maduración sexual liberan los metales. Rojas et al. (2009) en su estudio sobre la cinética de acumulación del Hg y su relación con la talla de los organismos encontraron también una relación inversa entre la acumulación del metal y el tamaño, explicando este fenómeno como una respuesta a la presencia del metal en el tejido blando del organismo que induce mecanismos fisiológicos característicos de cada estadio de su desarrollo y encaminados a contrarrestar el efecto tóxico del metal y su depuración.

Corral et al. (2000) indican que la variabilidad en la concentración de estos mismos elementos puede deberse a factores relacionados con los organismos como es el tamaño, tasa de crecimiento, edad, sexo o a factores externos como la fluctuación en espacio y tiempo de las corrientes de agua dulce, las diferencias de temperatura, salinidad o presión que se establecen en la zona del litoral.

Los moluscos bivalvos no son buenos indicadores de cobre en el medio acuático debido a que es un constituyente normal de los invertebrados marinos, presente en la hemocianina hasta en un 0.25%, sin embargo cuando su concentración supera estos valores puede llegar a ser perjudicial (Corral et al. 2000); contrario a lo que sucede con el Hg, Cd y Pb que al no formar parte de la constitución normal de los tejidos vivos si son indicativos de contaminación ambiental, transmitiéndose a lo largo de las cadenas tróficas hasta el ser humano, y pueden ser catalogados como peligrosos si consideramos que los tres tipos de moluscos estudiados constituyen parte de la dieta diaria de la población de Balao y sus alrededores, existiendo el riesgo de su acumulación en el organismo humano con las consecuencias toxicológicas y patológicas descritas para cada uno de los metales.

## **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

Los resultados obtenidos en esta investigación sugieren que la acumulación de metales contaminantes, no es homogénea entre las especies estudiadas ni dentro de la misma especie, según lo indicado en la discusión.

La zona costera del sur de Ecuador en los últimos años ha sufrido un incremento de la contaminación por la presencia de metales pesados provenientes de la actividad minera llevada a cabo aguas arriba de los ríos que desembocan en la costa de Balao, y de la actividad agrícola característica de esta zona, ambas son fuentes antropogénicas de contaminación del medio

acuático, sin embargo los resultados obtenidos en los análisis de plomo, arsénico, cromo, cadmio, cobre y mercurio en la mayoría de muestras de las especies de moluscos bivalvos procedentes de esta costa no indican un mayor grado de bioacumulación.

La recolección de moluscos bivalvos que constituyen la principal fuente de alimentación para poblaciones costeras se produce especialmente en aguas estuarias y en manglares que son ecosistemas productivos de importancia ecológica, económica y social.

A pesar de que los organismos empleados en la investigación son una fuente importante en la nutrición de la población del Ecuador, en base a los resultados de este estudio, el consumo moderado de moluscos provenientes de esta zona, aparentemente no presentan un riesgo significativo para el consumidor con respecto a la presencia de plomo, mercurio, arsénico y cobre. El cadmio es el único metal tóxico que se encuentra en concentraciones ligeramente superiores a los límites permisibles y en consecuencia podría significar un riesgo para la salud; por tanto, se recomienda el seguimiento de este metal especialmente en especies destinadas a consumo humano.

Sería conveniente realizar a futuro estudios de concentración de metales pesados en sedimentos de los manglares de la zona y del agua del río Balao para complementar este estudio y tener una mejor perspectiva del grado de contaminación existente y el riesgo para la salud humana, además impulsar la ejecución de proyectos de investigación y monitoreo del ecosistema del manglar para asegurar un manejo sostenible del mismo.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Acosta V, Lodeiros C. 2004. Metales pesados en la almeja *Tivela mactroides* Born, 1778 (Bivalvia: veneridae) en localidades costeras con diferentes grados de contaminación en Venezuela. Ciencias Marinas, junio, año/vol.30, número 002. Caribe Universidad Autónoma de Baja California. México. pp 323-333.

Arauzo M, Ribera M, Valladolid M, Noreña C, Cedenilla O. 2003. Contaminación por cromo en el agua intersticial, en el agua del cauce y en los sedimentos del Río Jarama. Asociación Española de Limnología. Madrid, España.

Argota P, González P, Argota C, Fimia D y Lannacone O. 2012. Desarrollo y bioacumulación de metales pesados en *Gambusia punctata* (Poeciliidae) ante los efectos de la contaminación acuática. REDVERT Rev. electrón. vet. Vol No 13 05B. (en línea) <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n050512B.html>

Baird C, Cann M. 2014. Química Ambiental. Segunda edición. Editorial Reverté. Barcelona.

- Baqueiro R, Borabe L, Goldaracena C, Rodríguez J. 2007. Los moluscos y la contaminación. Una revisión. *Rev Mex Biod*, Vol.78. pp 1-7. Universidad Autónoma de México. Distrito Federal, México. (en línea) <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=42509901>. Consulta: 13 de abril de 2016.
- Calles, J. 2016. Monitoreo de la calidad y cantidad del agua. Obtenido de: <http://agua-ecuador.blogspot.com/2016/07/monitoreo-de-la-calidad-y-cantidad-del.html> Blog El Agua en el Ecuador.
- Corral M, Grizel H, Montes J, Polanco E. 2000. *La Acuicultura: Biología, regulación, fomento, nuevas tendencias y estrategia comercial*. Tomo I. Análisis del desarrollo de los cultivos: medio, agua y especies. Fundación Alfonso Martín Escudero. Madrid, España.
- Cruz M, Mair J. 2009. Ecología y Distribución de los moluscos bivalvos perforadores de rocas (familia Mytilidae) en la costa ecuatoriana del 2000 al 2005. (en línea) < [http://www.inocar.mil.ec/web/phocadownloadpap/actas\\_oceanograficas/acta18/OCE1801](http://www.inocar.mil.ec/web/phocadownloadpap/actas_oceanograficas/acta18/OCE1801).
- Díaz O, Encina F, Chuecas L, Becerra J, Cabello J, Figueroa A y Muñoz F. 2001. Influencia de variables estacionales espaciales, biológicas y ambientales en la bioacumulación de mercurio total en *Tagelus dombeii*. *Rev. Bio. Mar. y oceanogr.* 36(1), 15-29. (en línea) < <http://www.scielo.cl/pdf/revbiolmar/v36n1/art03.pdf>. Consultado el 18 de noviembre de 2016.
- Ferrer, A. 2003. Intoxicación por metales. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 26(Supl. 1), 141-153. (en línea) < [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1137-66272003002200008&lng=es&tlng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272003002200008&lng=es&tlng=es).
- FDA Food and Drug Administration. 2014. US Department of Health & Human Services. *Elemental Analysis Manual for Food and Related Products*. (en línea) < <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm2006954.htm>.
- Gary C. 2009. *Química Analítica*. Sexta edición. Editorial Mc Graw-Hill/Interamericana de México.
- Gil M, Torres A, Harvey M, Esteves J. 2006. Metales pesados en organismos marinos de la zona costera de la Patagonia Argentina continental. *Rev. Bio. Mar. y oceanogr.* 41(2), 167-176. (en línea) < [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0718-19572006000200004&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-19572006000200004&lng=es&tlng=es). 10.4067/S0718-19572006000200004. Consulta: 20 de abril de 2016.

- INEC Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. 2010. Ecuador en cifras (en línea) <[www.inec.gob.ec/tabulados\\_CPV/1\\_POBL\\_PROV\\_CANT\\_PARR\\_AREA.xls](http://www.inec.gob.ec/tabulados_CPV/1_POBL_PROV_CANT_PARR_AREA.xls).
- Jaramillo N. 2016. Estudio de Impacto Ambiental Expost Camaronera Edison Brito Alvarado. (en línea) < <https://maecalidadambiental.wordpress.com/page/2>.
- Mateos D, Luis Mariano. 2011. El arsénico, ese conocido tan desconocido. Ambociencias- Revista de divulgación científica. Área de Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales de la Universidad de León. (en línea) <<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3672563>. Consultado: 20 de junio de 2016.
- Mero M. 2010. “Determinación de metales pesados (Cd y Pb) en moluscos bivalvos de interés comercial de cuatro esteros del golfo de Guayaquil”. Tesis de grado para la obtención del Título de Magister en Ciencias con énfasis en Manejo Sustentable de Recursos Bioacuáticos y Medio Ambiente. Universidad de Guayaquil.
- Miller JN, Miller JC. 2002. Estadística y Quimiometría para Química Analítica. Cuarta edición. Editorial Prentice Hall. México.
- MIDENA. Ministerio de Defensa Nacional. Instituto Espacial Ecuatoriano. Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo. 2013. Memoria Técnica. Cantón Balao. Proyecto: “Generación de Geoinformación para la gestión del Territorio a Nivel Nacional Escala 1:25.000” Clima e Hidrología.
- MAE. Ministerio del Ambiente. COPADE. 2007. Propuesta de Ordenamiento de la Zona Costera del Cantón Balao. Provincia del Guayas.
- Ordóñez MC. 2014. “Bioacumulación de metales pesados (Pb, Hg, Cd) en el bivalvo *anadara tuberculosa* en cuatro localidades (Bajo Alto, estero Huayla, puerto Hualtaco y archipiélago de Jambelí) de la región costera de la provincia de El Oro”. Trabajo de Titulación previo a la obtención del Título de Ingeniera Química. Universidad Técnica de Machala. Ecuador.
- Oyarzún J, Oyarzún R. 2011. Minería Sostenible: Principios y Prácticas. Ediciones GEMM. España. Aula2pontonet. (en línea) < [www.aulados.net/Libros\\_Aula2pontonet\\_GEMM/Libro\\_Mineria\\_Sostenible.pdf](http://www.aulados.net/Libros_Aula2pontonet_GEMM/Libro_Mineria_Sostenible.pdf). Consulta: 18 de abril de 2016.
- Palacios Z. 2008. Histopatología de branquias y hepatopáncreas del mejillón verde *Perna viridis* (bivalvia: mytilidae) expuesto a dosis subletales de mercurio (modalidad: investigación). Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al Título de Licenciada en

Biología. Universidad de Oriente. Núcleo de Sucre. Escuela de Ciencias Departamento de Biología. Cumaná.

Ramos C, Castro E, Ramadugu Ch, Gómez J, Villalaz J, Aviléz M. 2012. Phylogenetic relationships among especies of *Protothaca* from Panama based on cytochrome C oxidase I (COI) sequences. Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela: 51(1): 75-84. (en línea) <<http://ri.biblioteca.udo.edu.ve/bitstream/123456789/3565/1/%5B07%5D-Vol.51-Nro.1-2012-420-1243-1-SM.pdf>. Consulta: 27 de julio de 2016.

Real Academia Española, 2014. Diccionario de la lengua española. (en línea) <<http://www.rae.es>

Rojas M. 2011. "Estudios de la contaminación de los recursos hídricos en la cuenca del Río San Pedro, previos a la construcción de una hidroeléctrica (P.H. Las Cruces) en Nayarit, México". Tesis para obtener el Título de Licenciado en Biología. Universidad de Guadalajara.

Rojas N, Lemus M, Rojas L, Martínez G, Ramos Y, Chung KS. 2009. Contenido de mercurio en *Perna viridis* en la Costa Norte del Estado Sucre, Venezuela. Cienc. mar. 2009, 35(1): 91-99. (en línea) <[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0185-38802009000100007](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-38802009000100007).

Rosas H. 2001. Estudio de la contaminación por metales pesados en la cuenca del Llobregat. Universidad Politécnica de Catalunya. BarcelonaTech. (en línea) <http://www.tdx.cat/handle/10803/6978>.

Senior W. 2015. Contenido de metales pesados en organismos acuícolas expendidos en los mercados de la ciudad de Machala, provincia de El Oro. Universidad Técnica de Machala- Universidad Estatal de la Península de Santa Elena. Ecuador. (en línea) [https://www.researchgate.net/publication/299612404\\_CONTENTIDO\\_DE\\_METALES\\_PESADOS\\_EN\\_ORGANISMOS\\_ACUICOLAS\\_EXPENDIDOS\\_EN\\_LOS\\_MERCADOS\\_DE\\_LA\\_CIUDDAD\\_DE\\_MACHALA\\_PROVINCIA\\_DE\\_EL\\_ORO](https://www.researchgate.net/publication/299612404_CONTENTIDO_DE_METALES_PESADOS_EN_ORGANISMOS_ACUICOLAS_EXPENDIDOS_EN_LOS_MERCADOS_DE_LA_CIUDDAD_DE_MACHALA_PROVINCIA_DE_EL_ORO)

SENPLADES. Secretaría Nacional de Información y Desarrollo. 2015. Información para la Planificación y el Ordenamiento Territorial. (en línea) <http://sni.gob.ec/web/inicio/descargapdyot>

Sibaja W, Villalobos C. 1986. Crecimiento del mejillón chora *Mytella guyanensis* L. (Bivalvia: Mytilidae), en el Golfo de Nicoya. Rev. Biol. Trop. 34 (2): 231-236. Costa Rica. (en línea)

[http://www.ots.ac.cr/rbt/attachments/volumes/vol34-2/11\\_Sibaja\\_Mytella\\_guyanensis.pdf](http://www.ots.ac.cr/rbt/attachments/volumes/vol34-2/11_Sibaja_Mytella_guyanensis.pdf). Consulta: 25 de julio de 2016.

WoRMS Editorial Board. 2016. World Register of Marine Species. (en línea) <http://www.marinespecies.org> en VLIZ. Consulta: 21 de noviembre de 2016.

Zambrano M, Prado J, Arencibia G, Vidal A. 2012. Bioacumulación de naftaleno y fluoranteno en el molusco bivalvo *Anadara tuberculosa*. (Sowerby, 1833). Rev. U.D.C.A Actualidad y Divulgación Científica. Vol.15 (2):283-290. Retrieved October 13, 2016. (en línea) [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=SO123-42262012000200005&lng=en&ting=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=SO123-42262012000200005&lng=en&ting=es).

## **ANEXOS**

### **GLOSARIO**

**Alucinaciones.** - Sensación subjetiva que no va precedida de impresión en los sentidos.

**Delirios.** - Confusión mental caracterizada por alucinaciones, reiteración de pensamientos absurdos e incoherencia.

**Intersticiales.** - Que ocupa los intersticios que existen en un cuerpo o entre dos o más.

**Memoria.** - Facultad psíquica por medio de la cual se retiene o recuerda el pasado.

**Metales pesados.** - Grupo de elementos químicos que presentan una densidad relativamente alta y cierta toxicidad para el ser humano.

**Necrosis.** - Degeneración de un tejido por muerte de sus células.

**Pulmonares.** - Perteneciente o relativo a los pulmones.

**Renales.** - Perteneciente o relativo a los riñones.

**Temblores.** - Movimientos involuntarios del cuerpo o de una de sus partes.

**Úlceras.** - Solución con continuidad con pérdida de sustancia en los tejidos orgánicos, acompañada ordinariamente de secreción de pus y sostenida por un vicio local o por una causa interna.

**Matriz de contenido de metales pesados**

Muestra	As mg/Kg	Cd mg/Kg	Cr mg/Kg	Cu mg/Kg	Hg mg/Kg	Pb mg/Kg	Cluster
C1	0	2,55	0,28	69,17	0,27	0,40	1
C2	0	1,86	0,22	8,60	0,39	0,45	2
C3	0	1,58	0,33	10,88	0,16	0,12	2
C4	0	1,48	0,45	5,93	0,20	0,18	2
C5	0	1,81	0,24	18,50	0,14	0	2
C6	0	3,25	0,44	37,17	0,90	0	1
C7	0	2,28	0,33	6,69	0,33	0	2
C8	0	2,53	0,24	5,93	0,19	0,15	2
C9	0	2,29	0,24	27,26	0,20	0,07	2
C10	0	2,34	1,56	7,07	0,18	0	2
C11	0	2,10	0,30	7,07	0,14	0,19	2
C12	0	1,96	0,22	5,55	0	0	2
C13	0	2,00	0,52	0	0	0,13	2
C14	0	1,88	0,32	7,07	0	0	2
C15	0	2,21	0,77	6,69	0	0	2
M1	0	0,38	0,67	17,98	0	0	3
M2	0	0,00	0,42	19,55	0	0	3
M3	0	0,00	0,40	27,05	0	0	3
M4	0	0,00	0,52	17,19	0	0	3
M5	0	0,00	0,51	23,50	0	0	3
M6	0	0,00	0,63	25,08	0	0	3
M7	0	0,00	1,31	36,91	0	0	3
M8	0	0,00	0,60	34,15	0	0	3
M9	0	0,00	0,64	26,26	0	0	3
M10	0	0,00	0,59	32,97	0	0	3
M11	0	0,19	0,45	39,28	0	0	3
M12	0	0,17	0,46	31,00	0	0	3
M13	0	0,16	0,46	22,32	0	0	3
M14	0	0,16	0,46	29,02	0	0	3
M15	0	0,18	0,36	37,31	0	0	3
A1	0	0,50	4,94	21,48	0	0,97	4
A2	0	0,63	1,06	17,08	0	0	3
A3	0	0,60	1,20	14,51	0	0	3
A4	0	0,35	0,50	16,34	0	0,92	5
A5	0	0,57	1,60	12,31	0	0,37	5
A6	0	0,58	0,36	21,11	0	0	3
A7	0	0,58	0,62	11,58	0	1,68	5
A8	0	0,45	0,43	18,18	0	0	3
A9	0,4	0,59	0,55	10,84	0	0,91	6
A10	0	0,61	0,74	14,14	0	0	3
A11	0	0,51	0,41	16,34	0	0,76	5
A12	0,3	0,55	0,82	18,91	0	0	6
A13	0,4	0,52	0,17	5,34	0	0,40	6
A14	0	0,42	0,19	8,28	0	0	3
A15	0	0,59	0,15	4,24	0	0	3
C: concha prieta	A: almeja	M: mejillón					

Fuente: los autores