



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA

“Calidad, Pertinencia y Calidez”

**UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA
SALUD**

CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE:**

INGENIERO QUÍMICO

TEMA:

**“CONTENIDO DE METALES PESADOS (Hg, Pb, Cd), EN EL
TEJIDO BLANDO DEL QUELÍPEDO Y HEPATOPÁNCREAS DEL
CANGREJO ROJO (*Ucides occidentalis*), EN TRES LOCALIDADES
DEL PERFIL COSTERO DE LA PROVINCIA DE EL ORO, 2014”**

AUTOR:

LUIS ALFREDO CHUQUIMARCA MONTESDEOCA

TUTOR:

DRA. MAIRIN JOSEFINA LEMUS BARRIOS, PhD.

MACHALA - EL ORO - ECUADOR

2015

CERTIFICA

Que el presente trabajo de titulación denominado: **“CONTENIDO DE METALES PESADOS (Hg, Pb, Cd), EN EL TEJIDO BLANDO DEL QUELÍPEDO Y HEPATOPÁNCREAS DEL CANGREJO ROJO (*Ucides occidentalis*), EN TRES LOCALIDADES DEL PERFIL COSTERO DE LA PROVINCIA DE EL ORO, 2014”**, elaborado por el egresado Luis Alfredo Chuquimarca Montesdeoca, fue desarrollada bajo mi supervisión y cumpliendo lo establecido en los reglamentos pertinentes, por lo que autorizo su presentación al honorable Consejo Directivo para los tramites respectivos.

Dra. MAIRIN JOSEFINA LEMUS BARRIOS, PhD.
Directora de trabajo de Titulación

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTORIA

Yo **Luis Alfredo Chuquimarca Montesdeoca**, con cédula de ciudadanía 070547474-0, egresado de la Carrera de Ingeniería Química de la Unidad Académica de Ciencias Químicas y de la Salud, de la Universidad Técnica de Machala, responsable del Presente Trabajo de Titulación titulado **“CONTENIDO DE METALES PESADOS (Hg, Pb, Cd), EN EL TEJIDO BLANDO DEL QUELÍPEDO Y HEPATOPÁNCREAS DEL CANGREJO ROJO (*Ucides occidentalis*), EN TRES LOCALIDADES DEL PERFIL COSTERO DE LA PROVINCIA DE EL ORO, 2014”**. Certifico que la responsabilidad de la investigación, resultados y conclusiones del presente trabajo pertenecen exclusivamente a mi autoría; una vez que ha sido aprobada por mi Tribunal de Sustentación autorizando su presentación. Deslindo a la Universidad Técnica de Machala de cualquier delito de plagio y cedo mis derechos de Autor a la Universidad Técnica de Machala para ella proceda a darle el uso que crea conveniente.

Luis Alfredo Chuquimarca Montesdeoca
C.I. 070547474-0

AUTOR

RESPONSABILIDAD DEL TUTOR

Las ideas, conceptos desarrollados, criterios, análisis y las conclusiones en el presente trabajo de investigación son de responsabilidad de su autor.

Luis Alfredo Chuquimarca Montesdeoca

CI: 0705474740

DEDICATORIA

Dedico este logro a mis queridos padres Santos Chuquimarca y Irma Montesdeoca, que me han podido dar su confianza para brindarme su apoyo incondicional y así ver cristalizada mi carrera profesional que con tantas ansias y orgullo esperaban que llegara este momento de haber podido cumplir una meta importante de mi vida, a mis hermanos César, Janeth y Lennis que de una u otra forma fueron parte de ese inmenso apoyo.

Luis Alfredo Chuquimarca M.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco primeramente a Dios por haberme dado la voluntad, los ánimos y la fuerza necesaria para poder llegar a cumplir mi meta trazada, a mis padres por su inmensa ayuda brindada, a mi novia Yesenia Sánchez que ha estado conmigo ayudándome a cumplir este prestigioso trabajo, estoy muy agradecido a mi tutora la Dra. Mairin Lemus y al Ing. Byron Lapo que han tenido la paciencia en poder ayudarme muy comedidamente, al Dr. Víctor Hugo González que de un comienzo me inculco la mentalidad de poder realizar un trabajo investigativo y de lo cual me ayudo a escoger mi tema de tesis.

Mis sinceros agradecimientos a la Unidad Académica de Ciencias Químicas y de la Salud que me ha formado tanto personal como profesional, a los docentes que derrocharon sus sabios conocimientos y dieron lo mejor para ver lograr cumplir la meta propuesta.

Luis Alfredo Chuquimarca M.

INDICE

CERTIFICA	I
CESIÓN DE DERECHOS DE AUTORIA	II
RESPONSABILIDAD DEL TUTOR	III
DEDICATORIA	IV
AGRADECIMIENTOS	V
RESUMEN	XIII
ABSTRACT	XIV
INTRODUCCIÓN	XV
PROBLEMÁTICA	XVI
JUSTIFICACIÓN	XVII
OBJETIVOS	XIX
Objetivo general	XIX
Objetivo Específico	XIX
VARIABLES DE ESTUDIO	XIX
Variable dependiente	XIX
Variable independiente	XIX
PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	XX
HIPÓTESIS	XX
1. MARCO TEÓRICO	1
1.1. CONTAMINACIÓN AMBIENTAL	1
1.2. IMPORTANCIA DEL ANÁLISIS DE LOS METALES PESADOS	2
1.3. TOXICIDAD DE METALES PESADOS COMO CONTAMINANTE EN LOS HUMANOS	3
1.3.1. Mercurio	3
1.3.1.1. Efectos toxicológicos del mercurio	4
1.3.1.2. Transporte y acumulación de mercurio	4

1.3.1.3.	Contenido de mercurio en los organismos acuáticos.....	5
1.3.2.	Plomo.....	5
1.3.2.1.	Fuentes de plomo	6
1.3.2.2.	Usos industriales	7
1.3.2.3.	Efectos tóxicos del plomo	8
1.3.3.	Cadmio	9
1.3.3.1.	Efectos tóxicos del cadmio.....	10
1.4.	BIOMONITOREO	11
1.4.1.	Selección de un Biomonitor.....	12
1.5.	CANGREJO ROJO (<i>Ucides occidentalis</i>).....	13
1.5.1.	Características del cangrejo rojo <i>Ucides occidentalis</i>	14
1.5.2.	Distribución	16
1.5.3.	<i>Ucides occidentalis</i> en el Ecuador	16
1.5.4.	Hábitat de la especie	17
1.5.5.	Comercialización de <i>Ucides occidentalis</i>	17
1.5.5.1.	Tipo de pesca	17
1.5.5.2.	Arte de pesca	17
1.5.6.	Efecto tóxico de los metales pesados en crustáceos.....	18
1.6.	MARCO LEGAL.....	19
1.7.	ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA.....	20
1.7.1.	Espectrofotometría de absorción atómica a la flama	22
1.7.2.	Espectrofotometría de absorción atómica con generador de hidruros (GH - EAA).....	23
1.7.3.	Producción de la Nube Atómica (Sistema Nebulizador-Quemador)	23
1.7.4.	Aplicaciones de espectrofotometría.....	25
2.	METODOLOGÍA.....	26
2.1.	ÁREA GEOGRÁFICA DE ESTUDIO	26

2.2. CAPTURA DE ORGANISMOS EN LAS LOCALIDADES DE MUESTREO.....	27
2.3. TÉCNICA E INSTRUMENTOS UTILIZADOS.....	29
2.4. Materiales y Equipos	29
2.4.1. Materiales de campo y de Laboratorio	29
2.4.2. Equipos y reactivos de laboratorio.....	30
2.5.1. Ingreso de las Muestras al Laboratorio para su análisis.	31
2.5.2. Preparación de las Muestras para análisis.	31
2.6. PREPARACIÓN DE MUESTRA Y DISOLUCIÓN DE ESTÁNDARES DE MERCURIO, CADMIO Y PLOMO.....	32
2.6.1. Disolución de muestra para lecturas de Hg.....	32
2.6.1.1. Preparación de estándar	32
2.6.2. Disolución de muestra para lecturas de Cd.....	33
2.6.2.1. Preparación de estándares	33
2.6.3. Disolución de muestra para lecturas de Pb	33
2.6.3.1. Preparación de estándares	34
2.7. Método de análisis de los metales.....	34
2.8. Procedimiento del espectrofotómetro de absorción atómica para el análisis de determinación de metales	34
2.8.1. Equipo Utilizado para el análisis.....	35
3. RESULTADOS	37
3.1. ANÁLISIS DE TEJIDO DEL HEPATOPÁNCREAS Y QUELÍPEDOS DE <i>Ucides occidentalis</i>.....	37
3.2. ANÁLISIS DE PLOMO, CADMIO Y MERCURIO EN HEPATOPÁNCREAS Y MÚSCULO DE QUELÍPEDO POR SEXO.....	39
3.3. ANÁLISIS DE PLOMO, CADMIO Y MERCURIO EN HEPATOPÁNCREAS Y MÚSCULO DE QUELÍPEDO EN LAS TRES LOCALIDADES DE MUESTREO.....	41
3.3.1. Niveles de Pb, Cd y Hg en machos	41

3.3.2.	Niveles de pb, cd y hg en hembras.....	42
3.4.	CORRELACIÓN DE METALES DEL HEPATOPÁNCREAS Y EL MÚSCULO DE QUELÍPEDO CON RESPECTO AL PESO TOTAL DE LAS HEMBRAS Y MACHOS DE LA ESPECIE <i>Ucides occidentalis</i>	46
3.4.1.	Correlaciones de metales en hembras.....	46
3.4.2.	Correlaciones de metales en machos.....	47
4.	DISCUSIÓN	48
5.	CONCLUSIONES	52
6.	RECOMENDACIONES	53
7.	BIBLIOGRAFÍA	54

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Clasificación de la especie de cangrejo rojo (<i>Ucides occidentalis</i>).....	14
Tabla 2: Temperatura de los gases.....	24
Tabla 3: Volumen de concentraciones de estándares de Mercurio.....	32
Tabla 4: Volumen de concentraciones de estándares de Cadmio	33
Tabla 5: Volumen de concentraciones de estándares de Plomo.	34
Tabla 6: Límites y método de detección para Hg, Pb, Cd, en Espectrofotometría de absorción atómica (SHIMADZU AA-6300).	36
Tabla 7: Resumen estadístico de concentraciones de Pb, Cd y Hg para hepatopáncreas y músculo de quelípedos de <i>Ucides occidentalis</i>.	38
Tabla 8: Resumen estadístico de los niveles de Pb, Cd y Hg en hepatopáncreas y en músculo de quelípedos de machos y hembras de <i>Ucides occidentalis</i>.....	39
Tabla 9: Resumen estadístico de niveles de concentración de Pb, Cd y Hg en hepatopáncreas y músculo de quelípedo por localidades de muestreo en machos de la especie <i>Ucides occidentalis</i>.....	42
Tabla 10: Resumen estadístico de niveles de concentración de Pb, Cd y Hg en hepatopáncreas y músculo de quelípedo por localidades de muestreo en hembras de la especie <i>Ucides occidentalis</i>.....	43
Tabla 11 : Correlaciones de Pb, Cd y Hg de hepatopáncreas y el músculo de quelípedo de hembras con respecto al Peso Total.....	46
Tabla 12: Correlaciones entre metales de hepatopáncreas y el músculo de quelípedo de machos con respecto al Peso Total.....	47
Tabla 13 : Niveles de Plomo, Cadmio y Mercurio en diferentes especies de crustáceos.....	50
Tabla 14: Límites permisibles de metales pesados en los crustáceos.	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Cangrejo rojo (<i>Ucides occidentalis</i>)	14
Figura 2: <i>Ucides occidentalis</i> (Macho y Hembra).	15
Figura 3: Distribución Geografía de <i>Ucides occidentalis</i> en el Océano Pacífico Oriental.	16
Figura 4: Esquema de bloques de un espectrofotómetro de absorción atómica.	21
Figura 5: Esquema del nebulizador.	24
Figura 6: Mezcla de combustible, muestra y oxidante antes de la combustión.	24
Figura 7: Esquema de la llama del espectrofotómetro de absorción atómica.	25
Figura 8: Visión Geográfica de Puerto Hualtaco.	26
Figura 9: Visión Geográfica de Puerto Bolívar.	26
Figura 10: Visión Geográfica de Bajo Alto.	27
Figura 11: Imagen Satelital de la localidad de Puerto Hualtaco.	27
Figura 12: Imagen Satelital de la localidad de Puerto Bolívar.	28
Figura 13: Imagen Satelital de la localidad de Bajo Alto.	28
Figura 14: Partes del cangrejo rojo seleccionada para el análisis.	31
Figura 15: Espectrofotómetro de absorción atómica (AAS)	36
Figura 16: Plomo, Cadmio y Mercurio en Hepatopáncreas y Quelípedo de <i>Ucides occidentalis</i> provenientes de tres localidades de la zona costera de la provincia de El Oro.	37
Figura 17: Niveles de Plomo, Cadmio y Mercurio en la especie de <i>Ucides occidentalis</i>,	40
Figura 18: Concentración de Plomo, Cadmio y Mercurio en hepatopáncreas en tres localidades de muestreo, a) machos; b) hembras.	44
Figura 19: Concentración de Plomo, Cadmio y Mercurio en el músculo de quelípedo en tres localidades de muestreo, a) machos; b) hembras.	45

ANEXOS

Anexo 1: Disección de las muestras.....	62
Anexo 2: Secado y digestión de las muestras disecadas.	62
Anexo 3: Baño maría y filtrado de las muestras digeridas.	63
Anexo 4: Lecturas de las muestras en el espectrofotómetro de absorción atómica.....	63

RESUMEN

Se analizó el contenido de Hg, Cd y Pb en ejemplares de *Ucides occidentalis* provenientes de 3 localidades de la zona costera de la provincia de El Oro: Puerto Hualtaco, Puerto Bolívar y Bajo Alto. Los ejemplares fueron obtenidos a través de los pescadores artesanales de las localidades, se trasladaron al laboratorio donde se procedió a determinar los parámetros morfométricos y se extrajeron el hepatopáncreas y el músculo de quelípedo, los cuales fueron deshidratados en una estufa a 40 o 60°C durante 48 horas. Los tejidos fueron digeridos con HNO₃, grado analítico, posteriormente se aforaron a 25 ml. Las muestras fueron analizadas a través de espectrofotometría de absorción atómica y los resultados fueron expresados en $\mu\text{g. g}^{-1}$ de masa húmeda. Se determinó que no existen diferencias significativas en la bioacumulación de Cd y Hg entre el músculo del quelípedo y el hepatopáncreas ($P < 0,05$) mientras que los niveles de Pb fueron significativamente mayores en músculo ($p < 0,05$). Se determinaron diferencias significativas en la incorporación de Pb, Cd y Hg entre hembras y machos a excepción de los niveles de Hg en músculo de quelípedo. Las hembras mostraron mayor concentración de plomo ($1,15 \pm 0,55$ y $2,05 \pm 1,89 \mu\text{g. g}^{-1}$ para hepatopáncreas y músculo respectivamente). El Hg mostró su mayor concentración en músculo de hembras ($1,47 \pm 2,79 \mu\text{g. g}^{-1}$). El Cd por el contrario fue mayor en ambos tejidos de hembras ($0,10 \pm 0,07$ y $0,15 \pm 0,08 \mu\text{g. g}^{-1}$ para hepatopáncreas y quelípedo respectivamente). Entre zonas se mostraron diferencias asociadas al sexo y al tejido. Las concentraciones de mercurio en ambos tejidos sobrepasan los niveles permisibles señalados por normativas internacionales.

Palabras Claves: Mercurio, *Ucides occidentalis*, Metales Pesados, Bioacumulación, Contaminación.

ABSTRACT

Analyzed the content of Hg, Cd and Pb in copies of diversity occidentalis from three locations in the coastal area of the province of El Oro: Puerto Hualtaco, Puerto Bolívar and bass high. The copies they were obtained through local fishermen towns, were transferred to the laboratory where we proceeded to determine the morphometric parameters and extracted the hepatopáncreas and muscle of quelípedo, which were dried in an oven at 40-60 ° C for 48 hours. Tissues were digested with HNO₃, analytical grade, later aforaron to 25 ml. The samples were analyzed by atomic absorption spectrophotometry and the results were expressed in µg. g⁻¹ wet mass. It was determined that significant differences in bioaccumulation of Cd and Hg there are no between the quelípedo muscle and the hepatopáncreas (P < 0,05) while Pb levels were significantly higher in muscle (p < 0,05). No significant difference in the incorporation of Pb, Cd and Hg between males and females with the exception of Hg levels in muscle of quelípedo were determined. The females showed higher concentration of lead (1.15 ± 0.55 and 2.05 ± 1.89. µg.g⁻¹ for hepatopáncreas and muscle, respectively). Hg showed its highest concentration in muscle of females (1.47 ± 2.79. µg.g⁻¹). The Cd on the other hand was higher in both tissues of females (0.10 ± 0.07 and 0.15 ± 0.08 µg. g⁻¹ for hepatopáncreas and quelípedo respectively). Between zones were associated with sex and tissue differences. Concentrations of mercury in both tissues exceed permissible levels designated by international standards.

Keywords: Mercury, *Ucides occidentalis*, Heavy Metals, Bioaccumulation, Contamination.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo tecnológico, el consumo masivo e indiscriminado y la producción de desechos principalmente urbanos, industriales y mineros, ha provocado la presencia de muchos metales pesados en cantidades importantes en el ambiente acuático, provocando numerosos efectos sobre la salud y el equilibrio de los ecosistemas. Estos metales se incorporan con los alimentos o como partículas que se respiran y se van acumulando en el organismo, hasta llegar a límites de toxicidad.

Muchos contaminantes que ingresan a un cuerpo de agua superficial, por vía natural o antropogénica, quedan retenidos en los sedimentos que se depositan en el fondo del cauce, causando efectos tóxicos sobre los sistemas acuáticos. (Esteves, Gil, & Harvey, 1996).

Los metales pesados, en comparación con otros contaminantes, no son biodegradables y sufren un ciclo ecológico global en el cual las aguas naturales son las principales vías, siendo críticos los efectos negativos que ellos ejercen, debido a que pueden causar graves daños a nivel celular dada su capacidad para desnaturalizar proteínas, ser asimilados por el fitoplancton y organismos filtradores e incorporados a la cadena alimenticia provocando graves alteraciones ecológicas y biológicas, no solo al ecosistema, sino a los humanos. *Ucides occidentalis* o también conocido como cangrejo rojo es una especie más representativa de la región tropical de América, en la costa del Pacífico, al igual que otras especies de cangrejos terrestres, constituye una importante fuente de alimentos y de ingresos económicos para las personas que se dedican a la captura de este crustáceo en las zonas costeras tropicales. En el Ecuador, la pesquería de cangrejo rojo se desarrolla en áreas de reserva de manglares, áreas de manglares concesionadas a organizaciones pesqueras y áreas de libre acceso, principalmente en el Golfo de Guayaquil, y en menor proporción en el Archipiélago de Jambelí (Provincia de El Oro) y el estuario del Río Chone (Manabí) (Gad & Griffiths, 1987). Son miles de personas que se benefician de la extracción de esta especie, que van desde las comunidades recolectoras, comerciantes, locales comerciales y compradores. Por otro lado, se debe mencionar la importancia ecológica que tiene *U. occidentalis* en el manglar, al intervenir en procesos de reciclaje del nitrógeno, remoción de hojarasca, aireación del suelo (INP, 2015).

PROBLEMÁTICA

La actividad industrial y minera arroja al ambiente metales tóxicos, muy dañinos para la salud humana y para la mayoría de formas de vida. Además, los metales originados en las fuentes de emisión generadas por el hombre (antropogénicas), incluyendo la combustión de nafta y plomo, se encuentran en la atmosfera como material suspendido que respiramos. Por otro lado, las aguas residuales no tratadas, provenientes de minas y fábricas, llegan a los ríos, mientras los desechos contaminan las aguas subterráneas. Cuando se abandonan metales tóxicos en el ambiente, contaminan el suelo y se acumulan en las plantas y los tejidos orgánicos. (Duffus, 2002).

El cangrejo rojo representa un recurso pesquero de importancia comercial con alto consumo entre los pobladores y en la diferentes provincias del Ecuador, por lo que el conocimiento de los niveles de metales tóxicos como el Hg, Cd y Pb son fundamentales para determinar la inocuidad de los mismos para el consumo humano y también conocer que las concentraciones de los mismos no puedan estar afectando la distribución y la abundancia de esta especie que es fundamental para mantener el equilibrio ecológico de los ecosistemas. El estudio de metales pesados se realizara considerando como biomonitor el cangrejo rojo, y para ello se llevara a cabo un estudio temporal y espacial en el perfil costero de la provincia de El Oro, en el cual se identificara si existe presencia de Pb, Hg, Cd, por la contaminación producto de la actividad minera, agroquímicos, camaronera y por los desechos sólidos que van directamente a las aguas de los ríos y esteros afectando a la biota del perfil costero.

JUSTIFICACIÓN

En nuestro país son pocos los estudios de análisis de metales pesados en organismos comercializados para consumo humano, los mismos que se refieren a moluscos bivalvos, crustáceos y de las muchas especies que habitan entre el ecosistemas de manglar los cuales tienen importancia económica, social y ecológica al constituirse en elementos esenciales para el desarrollo de ciclos reproductivos de especies marinas de relevancia económica para el sector pesquero.

En el Ecuador se consume con fines alimenticios el cangrejo rojo y es de suma importancia investigar si existe o no la bioacumulación de metales pesados tóxicos como el Plomo, Cadmio y Mercurio en este organismo de gran importancia comercial y así iniciar una línea base de concentraciones de Pb, Cd y Hg ya que mediante esta investigación se dará a conocer si el cangrejo rojo bioacumula estos elementos en el tejido blando del músculo de los quelípedos y hepatopáncreas, al no haber trabajos referentes se debe apoyar el proyecto (Siavichay, 2013).

La Constitución de la República del Ecuador en su artículo 395, señala que el estado garantizará un modelo sustentable de desarrollo, ambientalmente equilibrado y respetuoso de la diversidad cultural, que conserve la biodiversidad, la capacidad de regeneración cultural de los ecosistemas y asegure la satisfacción de las necesidades de las generaciones presente y futura (constitucion politica de la republica del ecuador, 2008).

En el capítulo II art. 81 de la ley de Minería, acumulación de residuos y prohibición de descarga de desechos, dice “los titulares de derechos mineros y mineros artesanales para acumular residuos mineros metalúrgicos deben tomar estrictas precauciones que eviten la contaminación el suelo, aire y agua y/o biota de los lugares en donde estos se depositen, en todas sus fases” (Ley de Minería del Ecuador, 2013).

De acuerdo a ese basamento legal se hace imprescindible una evaluación de la calidad de los ecosistemas de las zona costera de la Provincia de El Oro, donde desembocan los

ríos provenientes de la actividad minera, a la vez permitirá entender hacia qué áreas geográficas se deben de enfocar más esfuerzos.

En la zona costera de la provincia de El Oro, existe una diversidad de ecosistemas de manglares siendo además áreas generadoras de fuentes de ingresos económicos para las poblaciones humanas aledañas, consistente en la recolección de crustáceos como: cangrejo rojo (*Ucides occidentalis*), jaiba (*Callinectes arcuatus*), “camarón blanco” (*Penaeus vannamei*), “camaron azul” (*Litopenaeus stylirostris*), y moluscos como “concha prieta” (*Anadara tuberculosa*), concha “pata de mula” (*Anadara grandis*), *Ostrea columbiensis*, *Protothaca asperrima*, *Chione subrugosa* y una gran diversidad de peces, estos ecosistemas y biodiversidad existente están expuestos a la contaminación por metales pesados ya que se podría biocumular en el organismo de las distintas especies marinas que habitan en la zona costera, que podría estar generando un problema de salud pública humana por la ingesta de mariscos más comunes en la alimentación.

Con la presente investigación se pretende tener conocimientos de las concentraciones de metales pesados y de igual forma proporcionar información válida que podrá ser difundida entre los productores agrícolas, camaroneros, pescadores, mineros y autoridades relacionadas con el fin de desarrollar conciencia para un mejor manejo de los ecosistemas y en cumplimiento de las leyes respectivas.

OBJETIVOS

Objetivo general

Cuantificar las concentraciones de metales pesados (Hg, Pb, Cd), en el tejido blando del quelípedo y hepatopáncreas del cangrejo rojo (*Ucides Occidentalis*), de forma espacial y temporal en la zona del perfil costero de la provincia de El Oro.

Objetivo Específico

- Determinar cuantitativamente la presencia de metales pesados (Hg, Pb, Cd) por Espectrometría de Absorción Atómica (EAA), en cangrejo rojo del perfil costero de la Provincia de El Oro.
- Determinar si existe diferencias en concentraciones de metales pesados (Hg, Pb, Cd), en el músculo de quelípedos con el tejido del hepatopáncreas en el cangrejo rojo (*Ucides occidentalis*).
- Establecer si existen diferencias espaciales en la concentración de metales de *Ucides occidentalis*.
- Comparar los valores de las concentraciones de los metales analizados con normativas Internacionales.
- Comparar las concentraciones de metales pesados entre tejidos, sexo y localidades.

VARIABLES DE ESTUDIO

Variable dependiente:

- Concentración de Hg, Pb, Cd

Variable independiente:

- Organismos de *Ucides occidentalis*

PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

¿Qué concentración de metales pesados se encuentran en los tejidos del quelípedo y hepatopáncreas del cangrejo rojo?

¿Cuáles son las fuentes de contaminación de los ríos y esteros que afectan al perfil costero de la Provincia de El Oro?

¿Cuáles son los límites máximos permisibles de Hg, Pb y Cd, según normativas de la Unión Europea?

HIPÓTESIS

- El tejido blando del quelípedo y hepatopáncreas del cangrejo rojo bioacumulan Mercurio, Plomo y Cadmio, en concentraciones por encima de los límites permisibles de la normas Internacionales, para el consumo de dicho organismo.

1. MARCO TEÓRICO

1.1. CONTAMINACIÓN AMBIENTAL

Se le considera contaminación a todas aquellas sustancias o productos que dañan, corrompen y hacen un cambio perjudicial en las características físicas, químicas y biológicas del aire, tierra y agua y que afectan nocivamente a la gran mayoría de las especies (Odum.E, 1986). La contaminación ambiental aumenta drásticamente como consecuencia del desarrollo urbano e industrial, los asentamientos humanos y las diversas actividades que el hombre desarrolla tanto en la tierra como en el mar. Dichas acciones influyen negativamente sobre los ríos, lagunas y océanos ocasionando una seria contaminación afectando severamente a los organismos que ahí habita (Paez & Botello, 1986).

En los organismos vivos, los metales pesados, pueden producir una serie de desórdenes neurológicos, fisiológicos, de actividad enzimática, efectos teratogénicos, mutagénicos, desarrollo de problemas de reproducción, etc. La Agencia para la Protección Ambiental-EPA (1980, 1984 a, b, c, d) ha realizado numerosos estudios sobre la toxicidad y bioacumulación en plantas y animales acuáticos, en los cuales se explica ampliamente los efectos biológicos de la contaminación por metales pesados (Salamanca, ML, & N, 2005).

A pesar de que los estudios sobre contaminación marina son de gran importancia en ambientes estuarinos y costeros, donde las descargas tanto de residuos industriales como domésticos son altas (Díaz, y otros, 2001), en el Ecuador estos estudios específicamente sobre la contaminación de metales en la zona costera de la Provincia de El Oro, son escasos, han estado enfocados en agua, sedimentos de los ríos donde llegan los relaves de la industria minera y población humana (Tarras, y otros, 2000).

1.2. IMPORTANCIA DEL ANÁLISIS DE LOS METALES PESADOS

En los sistemas acuáticos se disuelven numerosas sales y sustancias de acuerdo a sus solubilidades.

La presencia en el terreno de diferentes materiales y estructuras geológicas son fuente de una gran variedad de iones disueltos en aguas superficiales, los que nos permitirían saber, de no haber existido la actividad humana, que tipo de suelo atraviesa un cauce de agua. Algunos de estos iones se encuentran en forma mayoritaria, respecto a los demás elementos en todas las aguas continentales: Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , SO_4^{2-} , CO_3^{2-} , mientras que otros se hallan a niveles de trazas, como es el caso de los metales pesados, siendo algunos de ellos necesarios para el correcto desarrollo de los microorganismos, plantas y animales (Rosas, 2001).

La contaminación en los ríos se produce, bien por la presencia de compuestos o elementos que normalmente no estarían sin la acción del hombre, o por un aumento o descenso de la concentración normal de las sustancias ya existentes debido a la acción humana. Unos de los componentes químicos potencialmente más tóxicos son los metales pesados, y entre ellos Sb, As, Cd, Cu, Cr, Hg, Ni, Pb, Se, Zn. El aporte de estos metales al ciclo hidrológico procede de diversas fuentes, siendo una de ellas de origen litogénico o geoquímico a partir de los minerales que por causas de erosión, lluvias, etc. son arrastradas al agua. No obstante, actualmente la mayor concentración es de origen antropogénico o debida la actividad humana (Realpe, 2009).

La minería, los procesos industriales, los residuos domésticos son fuente importante de contaminación, que aportan metales al aire, al agua y al suelo especialmente. La importancia que tiene el estudio de metales pesados en aguas y sedimentos es por su elevada toxicidad, alta persistencia y rápida acumulación por los organismos vivos. Sus efectos tóxicos de los metales pesados no se detectan fácilmente a corto plazo, aunque sí puede haber una incidencia muy importante a medio y largo plazo (Rosas, 2001).

Los metales son difíciles de eliminar del medio, puesto que los propios organismos los incorporan a sus tejidos y de éstos a sus depredadores, en los que se acaban manifestando.

La toxicidad de estos metales pesados es proporcional a la facilidad de ser absorbidos por los seres vivos, un metal disuelto en forma iónica puede absorberse más fácilmente que estando en forma elemental, y si esta se halla reducida finamente aumentan las posibilidades de su oxidación y retención por los diversos órganos (Mero M. , 2010).

1.3. TOXICIDAD DE METALES PESADOS COMO CONTAMINANTE EN LOS HUMANOS

1.3.1. Mercurio

La toxicidad referida en esta sección hace alusión fundamentalmente a casos de exposición ocupacional o ambiental al. En este punto es importante aclarar que la ingestión de pequeñas cantidades de compuestos de mercurio puede ser fatal.

Desde el punto de vista toxicológico, existen tres formas de mercurio: mercurio elemental, mercurio inorgánico (sales de mercurio y óxido de mercurio) y mercurio orgánico. Cada una de estas especies químicas de mercurio posee espectros diferentes de toxicidad, aunque todas ellas tienen en común su capacidad de inducir cambios en los sistemas neuronales de los humanos.

En la exposición a mercurio elemental, o sea aquella a la que están expuestos los mineros auríferos, odontólogos, personas con amalgamas dentales y trabajadores de plantas de producción de cloro, entre otros, puede generar déficit en el desarrollo neurológico y de comportamiento (Ozuah, 2001) (Tirado, 2000), lo cual puede incluir daños sutiles en la memoria visual, atención y velocidad en las respuestas visuales, auditivas y psicomotoras (Ellingsen, Bast-Pettersen, Efskind, & Thomassen., 2001) (Counter, Buchanan, Ortega, & Laurell, 2002), pérdida reversible de la capacidad para distinguir colores (Cavalleri & Gobba, 1998), además de inflamaciones severas de la piel (Zimmer, Grange, Straub, Haegy, & Guillaume, 1997) (Boyd, Seger, Vannucci, Langley, Abraham, & King, 1994), entre otros efectos.

Para la mayoría de las personas, la ingestión de alimentos contaminados sobre todo productos de la pesca representa el mayor riesgo de intoxicación por mercurio, debido a su biotransformación y magnificación biológica a través de la cadena trófica, ya que puede ser acumulado por organismos de la fauna marina que al ser consumidos podrían

provocar efectos fisiológicos negativos como la Parestesia que es la insensibilidad o sensación de comezón alrededor de labios, dedos de manos y pies, éstos son los primeros síntomas, posteriormente se produce dificultad al caminar o tropiezos y trastornos en la articulación de palabras, pérdida de la visión, oído, fatiga, irritabilidad, y finalmente la degeneración del sistema nervioso causando la muerte. (Brewer, Casaret, & Doulls., 1994).

1.3.1.1. Efectos toxicológicos del mercurio

Existen numerosos factores que pueden incidir sobre la toxicidad del Hg, pudiendo ser mencionados entre ellos el pH, la alcalinidad, la dureza, el oxígeno disuelto, la temperatura, la concentración de cloruros y la presencia de complejantes orgánicos. En este sentido, experiencias de campo indican que al disminuir el pH aumenta la incorporación de Hg en peces e invertebrados, proceso que también es favorecido por la presencia de materia orgánica. Existe gran cantidad de referencias sobre toxicidad aguda del Hg inorgánico. Entre los invertebrados, para ciertas especies de dípteros quironómidos, que son los organismos más resistentes al Hg inorgánico, se registran concentraciones letales para el 50 % de los individuos expuestos (CL50) que llegan hasta 32,3 mg/l, con una media geométrica para el género *Chironomus* igual a 554 µg/l. Como contrapartida, para la especie invertebrada más sensible, *Daphnia magna*, se observan CL50 iguales a 1,48 µg/l, con una media geométrica para el género igual a 2,64 µg/l. En cuanto a los vertebrados, para la especie más sensible de las utilizadas para derivar el nivel guía para Hg (*Gastrophryne carolinensis*), como se detalla luego, es observable una CL50 igual a 1 µg/l, mientras que la especie más resistente, la tilapia (*Tilapia mossambica*), presenta una CL50 igual a 1000 µg/l (Codina, 1983).

1.3.1.2. Transporte y acumulación de mercurio

Los compuestos mercúricos volátiles, como el mercurio metálico y el dimetil Hg se evaporan hacia la atmósfera. El uso de Hg en las industrias, el quemar combustibles que contienen Hg y el lavado de minerales que contienen Hg contribuyen a la contaminación atmosférica (Pezo, 1992).

El dimetil mercurio es inestable en la atmósfera, en contacto con ácidos es delegado a la forma de monometil soluble en agua y por acción de la luz ultravioleta es descompuesto a mercurio (inorgánico) elemental (Sic) (Pezo, 1992).

1.3.1.3. Contenido de mercurio en los organismos acuáticos

El planeta contiene frecuentemente niveles de mercurio de 2-10 ppm, la mayor parte en la forma inorgánica, mientras que en los peces varía desde 0.01 a 2 ppm, con una fracción significativa de metil mercurio unido a proteínas no disuelto en grasa como es el caso de los hidrocarburos dorados.

Consecuentemente el contenido de Hg en los peces no depende de la presencia de grasa sino más bien de su nivel trófico, tamaño y edad. Esto nos indica que el mayor contenido de Hg se encuentra en los grandes predadores. El problema del Hg es comúnmente considerado en relación al consumidor de peces y no como un problema en la producción de peces, salvo una toxicidad aguda, que puede producir una concentración de 20 p.p.m (Pezo, 1992).

1.3.2. Plomo

Es un veneno acumulativo que tiende a depositarse en el sistema óseo produciendo diversos síntomas que van desde la pérdida del apetito, anemia, hasta la parálisis gradual de los 10 músculos. El límite recomendado es de 0.1 mg/l según normas europeas y 0.05 mg/l en EEUU. Su efecto sobre la vida acuática se manifiesta e muy bajas concentraciones y depende de un gran número de factores entre ellos, el contenido de oxígeno y fisicoquímico del agua. Una concentración relativamente segura. Para el desarrollo de la vida acuática parece ser de 0.1 mg/l (CLAIR, 2001).

El Pb tiene especial afinidad hacia la medula ósea y tejido conjuntivo: los músculos solo afecta cuando las dosis son muy altas. La cantidad de Pb que contamina el pescado oscila entre 0.5 y 6 mg/kg, los más afectados son los depredadores. Se afecta también las branquias, la piel, el vaso, el riñón y corazón; representa una acción cáustica sobre las branquias, trastornos funcionales y anemias (Jerome & Epstein, 1991).

1.3.2.1. Fuentes de plomo

El Pb rara vez se encuentra en su estado elemental. El mineral más común es el sulfuro y la galena. Los otros minerales de importancia comercial son el carbonato, cerusita, y el sulfato, anglesita, que son muchísimo más raros. También se encuentra Pb en varios minerales de uranio y de torio, ya que proviene directamente de la desintegración radiactiva (decaimiento radiactivo). Los minerales comerciales pueden contener tan poco Pb como el 3%, pero lo más común es un contenido de poco más o menos el 10%. Los minerales se concentran hasta alcanzar un contenido de Pb de 40% o más antes de fundirse o ceder ante la presencia de fuentes de calor extremo (Chang, 2002).

Se están desarrollando compuestos órgano plúmbicos para aplicaciones como son la de catalizadores en la fabricación de espuma de poliuretano, tóxicos para las pinturas navales con el fin de inhibir la incrustación en los cascos, agentes biocidas contra las bacterias gram-positivas, ácaros y otras bacterias que puedan invadir zonas íntimas, protección de la madera contra el ataque de los barrenillos y hongos marinos, preservadores para el algodón contra la descomposición y el moho, agentes molusquicidas, agentes antihelmínticos, agentes reductores del desgaste en los lubricantes e inhibidores de la corrosión para el acero (CLAIR, 2001).

El uso más amplio del Pb, como tal, se encuentra en la fabricación de acumuladores. Otras aplicaciones importantes son la fabricación de tetraetilplomo, forros para cables, elementos de construcción, pigmentos, soldadura suave, municiones, plomadas para pesca y también en la fabricación de soldaditos y otros juguetes (Chang, 2002).

Merced a su excelente resistencia a la corrosión, el Pb encuentra un amplio uso en la construcción, en particular en la industria química. Es resistente al ataque por parte de muchos ácidos porque forma su propio revestimiento protector de óxido, pero es atacado por las bases nitrogenadas. Como consecuencia de esta característica ventajosa, el Pb se utiliza mucho en la fabricación y el manejo del ácido sulfúrico y ácido nítrico (CLAIR, 2001).

Durante mucho tiempo se ha empleado el Pb como pantalla protectora para las máquinas de rayos X. En virtud de las aplicaciones cada vez más amplias de la energía

atómica, se han vuelto cada vez más importantes las aplicaciones del Pb como blindaje contra la radiación y los malos olores producidos por esta (LUQUE, 2005).

1.3.2.2. Usos industriales

En el Imperio Romano las cañerías y las bañeras se recubrían con Pb o con cobre, lo cual causó muchos casos de saturnismo inadvertido y confundido en su momento con contaminaciones etílicas.

Su utilización como cubierta para cables, ya sea la de teléfono, de televisión, de Internet o de electricidad, sigue siendo una forma de empleo adecuada. La ductilidad única del Pb lo hace particularmente apropiado para esta aplicación, porque puede estirarse para formar un forro continuo alrededor de los conductores internos.

El uso del Pb en pigmentos sintéticos o artificiales ha sido muy importante, pero está decreciendo en volumen (Spiro & Stigliani., 2004).

Según (Abarca, 2014), El pigmento que se utilizan con más frecuencia y en los que interviene este elemento son:

- El blanco de plomo $2\text{PbCO}_3 \cdot \text{Pb}(\text{OH})_2$
- Sulfato básico de plomo
- El Tetróxido de plomo también conocido como minino.
- Cromatos de plomo.
- El silicatoeno de plomo más conocido en la industria de los aceros blandos

Se utilizan una gran variedad de compuestos de Pb, como los silicatos, los carbonatos y sales de ácidos orgánicos, como estabilizadores contra el calor y la luz para los plásticos de cloruro de polivinilo. Se usan silicatos de Pb para la fabricación de frituras de vidrio y de cerámica, las que resultan útiles para introducir Pb en los acabados del vidrio y de la cerámica.

El azuro de plomo, $\text{Pb}(\text{N}_3)_2$, es el detonador estándar para los explosivos. Los arsenatos de Pb se emplean en grandes cantidades como insecticidas para la protección de los cultivos y para ahuyentar insectos molestos como lo son cucarachas mosquitos y otros animales que posean un exoesqueleto. El litargirio (óxido de plomo) se emplea

mucho para mejorar las propiedades magnéticas de los imanes de cerámica de ferrita de bario.

Asimismo, una mezcla calcinada de zirconato de Pb y de titanato de plomo, conocida como PETE, está ampliando su mercado como un material piezoeléctrico (Spiro & Stigliani., 2004).

1.3.2.3. Efectos tóxicos del plomo

El Plomo llega a la sangre a través de dos vías: la respiratoria y la digestiva. La vía pulmonar es la más importante. Se absorbe entre el 30-50 por ciento de la cantidad respirada. La penetración del Plomo está en función de varios factores:

- 1.- Del tamaño de las partículas: su nocividad es inversamente proporcional al tamaño.
- 2.- De la concentración de Plomo en la atmósfera. Una concentración de 150 mg/m³ implica una absorción respiratoria diaria de alrededor de 1,2 mg para un trabajador que efectúe un trabajo medianamente penoso e inspire 8 m³ de aire en 8 horas.
3. Del débito pulmonar: más importante durante el esfuerzo y, en particular, para las personas con secuelas después de haber padecido afecciones pulmonares (OMS., 1999).

La vía digestiva es poco importante en las enfermedades laborales en el caso del Plomo, pero no debe despreciarse. Por esta vía penetran las partículas de Plomo o compuestos depositados en los labios, en las manos o en objetos al meterlos en la boca (OMS., 1999).

Los hábitos personales del trabajador influyen notablemente: fumar, beber o comer en el puesto de trabajo y más sin lavarse previamente. Además se calcula que más del 40% de las partículas de mayor tamaño de Plomo inhaladas y retenidas en el tracto respiratorio superior pueden ser deglutidas tras su transporte por los cilios de la mucosa respiratoria. Por supuesto, la absorción, siempre limitada, depende del tamaño y compuesto químico de las partículas. Se calcula que se absorbe un 10% de lo ingerido en los adultos, pero puede llegar al 50% en los niños. La absorción del Plomo contenido en el agua de bebida es más alta que la del Plomo presente en alimentos (OMS., 1999).

La vía cutánea sólo tiene interés cuando existen escoriaciones y heridas en la piel. Los compuestos más nocivos por esta vía son los derivados orgánicos del Plomo, gracias a

su liposolubilidad, sobre todo el Plomo tetraetilo y el naftanato de Plomo, presente en grasas y aceites industriales.

Una vez absorbido, el Plomo en el organismo adopta un modelo tricompartmental en el que la sangre y los tejidos blandos representan un compartimento activo, mientras que el hueso y los dientes (tejidos duros) representan el compartimento de depósito.

El Plomo del torrente circulatorio representa el 2% del contenido total. Es transportado en un 95% por los hematíes y en un 5 % por el plasma. La vida media es de unos 35 días. Del total absorbido, una pequeña parte se deposita en diversos órganos (vida media \pm 40 días): riñón, hígado, bazo, médula ósea, cerebro, pulmones, etc. y el resto, alrededor de un 90-94% en el esqueleto. El Plomo fijado en los huesos es metabólicamente inactivo (vida media 20-30 años), pero puede volver al torrente circulatorio en ciertas condiciones especiales, relacionadas particularmente con el metabolismo fosfocálcico y el equilibrio ácido básico; esto puede provocar una variación en la eliminación del tóxico sin que se haya modificado de manera significativa su absorción. Las membranas celulares no actúan como barreras para este metal (OMS., 1999).

La eliminación se realiza principalmente por la orina (75% del Plomo absorbido), tanto por filtrado glomerular como por secreción tubular y, en menor medida, por las heces, los cabellos, la saliva (dando lugar al ribete de Burton si no hay higiene), la bilis, la leche y el sudor (Lippmann, 1992).

1.3.3. Cadmio

Se encuentra en la naturaleza en forma de sulfuro de Cd, frecuentemente con impureza, en minerales de zinc y Pb, en estado elemental es insoluble al agua, así como sus carbonatos e hidróxidos, en tanto que sus cloruros, nitratos y sulfuros son bastante solubles. Es especialmente peligroso ya que pueden cambiarse sinérgicamente con otras sustancias tóxicas. El Cd actúa sinérgicamente y va acompañado frecuentemente de compuestos de zinc-plomo y zinc-cobre-plomo. El valor letal para los peces oscila entre 0.01 y 2.0 ppm. Es utilizado para la industria para la producción de cobre, plata y aleaciones de aluminio. También se utiliza en el acabado de metales, cerámica, fotografía y aparece como sus subproductos en el funcionamiento de los reactores

nucleares. Se emplean sales de Cd para insecticidas y como agentes parasitarios. Máximo permisible 0,001 mg/l. su influencia sobre la vida acuática es decisiva en los moluscos, en los que no se desarrolla su concha bivalva (Jerome & Epstein, 1991).

No existe evidencia de que sea biológicamente esencial o benéfico. Se le atribuyen efectos carcinogénicos, mutagénicos y teratogénicos. Se lo considera toxico para toda forma de vida, incluyendo microorganismos, plantas, animales y el hombre, debido a que puede desplazar al zinc de algunos de sus sitios activos y competir con el calcio en ciertos sistemas biológicos (Barán, 1995).

La solubilidad del Cd en agua aumenta en medios ácidos, mientras que la adsorción a suelos y sedimentos se incrementa al aumentar el pH. Tanto los organismos terrestres como los acuáticos bioacumulan el Cd (Mero M. , 2010) .

Los síntomas de sobrecarga de Cd en el organismo son: aumento de la velocidad de sedimentación globular, disminución del número de anticuerpos, anemias por problemas de absorción del hierro, alteraciones en las piezas dentales y lesiones en la cavidad bucal, incapacidad amamantar y diversos dolores articulares (Orozco, Gonzales, Rodriguez, & Alfayate, 2003).

1.3.3.1. Efectos tóxicos del cadmio

Los principales efectos adversos del Cadmio incluyen daño renal y el enfisema pulmonar. La población de mayor riesgo son las mujeres con deficiencias nutricionales o bajo contenido de hierro, también las personas con trastornos renales, los fetos y los niños con bajo contenido de hierro en sus reservas corporales. (OMS., 1999), ha establecido una ingesta semanal tolerable provisional (ISTP) para el Cadmio en 7µg/kg de peso corporal siendo el riñón el órgano considerado crítico para controlar la toxicidad del Cadmio en los humanos. Los efectos críticos principales incluyen un aumento de la excreción de proteínas en la orina como resultado de los daños de células tubulares proximales y la severidad del efecto depende de la duración y magnitud de la exposición. Las alteraciones óseas es otro efecto crítico de la exposición crónica a niveles elevados de Cadmio (OMS., 1999).

El Cadmio es un carcinógeno humano por la vía de inhalación. Datos epidemiológicos de los lugares de trabajo confirman a los pulmones como órganos afectados, el Cadmio no se considera un agente carcinógeno por ingestión. El Cadmio se almacena principalmente en el hígado y los riñones, la excreción es lenta, con una media de vida muy larga (décadas) en el cuerpo humano; el Cadmio se almacena en la mayoría de los tejidos al aumentar la edad (OMS., 1999).

Las personas que viven en las proximidades de fuentes industriales y otras y otras fuentes con punto de liberación de Cadmio pueden estar expuestas a un mayor nivel de Cadmio.

Las personas con un alto consumo de mariscos y carnes de órganos de animales marinos pueden tener un consumo especialmente alto de Cadmio (OMS., 1999).

El Cadmio en los cultivos se debe a la absorción de Cadmio del suelo y la velocidad de absorción está influenciada por factores tales como el pH del suelo, salinidad, contenido de humus, las especies y variedades vegetales y la presencia de otros elementos (por ejemplo, zinc) (OMS., 1999).

1.4. BIOMONITOREO

El biomonitoreo, es un proceso utilizado para evaluar la salud de los sistemas acuáticos por medio del análisis de la calidad del hábitat y los organismos que viven en ellos; Es muy importante para determinar las soluciones a los problemas ambientales, para lo que se debe tener conocimiento de los mismos, así como de los factores bióticos y abióticos cuya calidad se ve alterada. El monitoreo ambiental surge como una valiosa herramienta para generar el conocimiento en los diversos campos, ya sean ecológicos, socioeconómicos y salud pública. (Cordero, 2011) .

El biomonitoreo es una alternativa competitiva, la cual consiste en la observación continua de un área con la ayuda de biomonitores (Temmerman, y otros, 2004).

El monitoreo de cuerpos de agua utilizando bio-indicadores acuáticos donde se recolectan macro-invertebrados y se los analiza en el laboratorio para determinar la

calidad del agua de un sitio explícito y sus variaciones de concentración de contaminación en el tiempo, los indicadores biológicos indican las condiciones de la calidad del agua en un sitio, ya sea en el pasado o en el momento determinado del monitoreo (Springer, 2010).

El uso de macro-invertebrados como indicadores de calidad de agua empezó hace más de 100 años en Europa. Hoy en día, constituye una herramienta muy útil y de relativamente bajo costo, por lo que es ampliamente utilizado en todo el mundo. A diferencia de los análisis (Springer, 2010).

1.4.1. Selección de un Biomonitor

La selección de un organismo o conjunto (suite) de organismos adecuado es uno de los principales retos en la elaboración de un estudio de biomonitoreo. En cuanto a los organismos utilizados, un biomonitor ideal deberá presentar ciertas características deseables, además, es importante conocer aspectos como su forma de alimentación, historia de vida, época de reproducción, estructura poblacional, etc. De acuerdo con (Butler, Andrén, Bonden, Jernelov, J, & Rome., 1971), (Haug, Melson, & Omang, 1974), (Phillips & Rainbow, 1980), (Phillips & Rainbow, 1994), (Rainbow, 1995), (Louma & Rainbow, 2008), (Zhou, Grange, Straub, Haegy, & Guillaume, 1997),

Entre las características deseables de un biomonitor son:

1. acumular altos niveles del contaminante.
2. tener forma de vida sésil/sedentaria o con migración corta dentro del área de estudio.
3. presentar amplia abundancia.
4. presentar amplia distribución (cosmopolitas).
5. ser longevo.
6. fácil de muestrear.
7. fácil de transportar y manipular.
8. presentar una buena relación dosis respuesta.
9. estar disponible a lo largo del año.
10. presentar hábitos de alimentación simples.
11. soportar una amplia gama de condiciones climáticas y ambientales.

12. las especies deben ser bien conocidas a nivel taxonómico.
13. debe haber un buen conocimiento de su historia de vida y biología de la especie.
14. los patrones de acumulación en el organismo objetivo, deben reflejarse también en algunas otras especies en el área de estudio.
15. el organismo debe ser preferentemente de importancia comercial y económica.
16. la adquisición (recolección y/o compra) de los organismos debe ser rentable.
17. las muestras deben ser transportables a nivel internacional sin impedimentos legales.

Otro aspecto importante de tomar en cuenta, es el uso de especies cosmopolitas en su distribución geográfica (Rainbow, 1995), que permita monitorear grandes extensiones del litoral. De hecho, no es que haya un organismo correcto o incorrecto que pueda ser usado como biomonitor; sino que, la selección de tales especies debe hacerse de acuerdo al contaminante y sitio en particular que se requiere monitorear (Phillips & Rainbow, 1980).

1.5. CANGREJO ROJO (*Ucides occidentalis*)

En nuestro país son pocos los estudios de análisis de metales pesados en organismos comercializados para consumo humano, los mismos que se refieren a moluscos bivalvos de los ecosistemas de manglar los cuales tienen importancia económica, social y ecológica al constituirse en elementos esenciales para el desarrollo de ciclos reproductivos de especies marinas de relevancia económica para el sector pesquero.

Sin embargo no se encontró datos de estudios sobre concentración de metales pesados en especies de crustáceos en Ecuador.

El cangrejo rojo, (*Ucides occidentalis*), pertenece a la familia Ocypodidae, la que comprende 18 géneros y alrededor de 80 especies compuestas por cangrejos de talla pequeña o mediana, a continuación características del organismo elegido para esta investigación (Figura 1).

Figura 1: Cangrejo rojo (*Ucides occidentalis*).



Fuente: Chuquimarca, 2015.

Tabla 1: Clasificación de la especie de cangrejo rojo (*Ucides occidentalis*).

Subreino	Bilateria
Phylum	Artrópoda
Clase	Malacostrácea
Orden	Decápoda
Familia	Ocypodidae
Género	Ucides
Especie	Occidentalis
N. V	Cangrejo rojo

Fuente: Chuquimarca. 2015.

1.5.1. Características del cangrejo rojo *Ucides occidentalis*

El cangrejo de manglar tiene un cefalotórax ovalado de color rojo- grisáceo o gris-azulado, con los márgenes laterales rojo-anaranjados. Pereiópodos y gran parte de los quelípedos (pinzas) de color oscuro. Región ventral café o blanca. Las regiones branquiales bien hinchadas, fuertemente proyectadas hacia los lados; distancia orbito-frontal inferior a los dos tercios de anchura del caparazón. Pedúnculo ocular largo y robusto, casi vertical en el animal vivo; margen ventral de la frente con una hendidura mediana. Quelípedos del macho extremadamente largo, algo asimétricos, con numerosos tubérculos y espinas (Fisher, 1995).

Es una especie que posee dimorfismo sexual externo. Estos organismos tienen fecundación sexual interna; durante la copula, el cangrejo macho transfiere los

espermatozoides a la hembra por medio de sus órganos copuladores. Los cangrejos machos poseen un solo par de pleópodos bien desarrollados, de consistencia dura, y adaptadas a la fecundación. Las hembras poseen cuatro pares de pleópodos de tamaño similar que están cubiertas de finos y numerosas setas, las mismas que contendrán la masa ovígera de las hembras ovadas (Figura 2) (Solano, Seguimiento al proceso de comercialización del Cangrejo rojo (*Ucides occidentalis*): Documento Interno INP., 2005).

Figura 2: *Ucides occidentalis* (Macho y Hembra).



Fuente: Chuquimarca, 2015.

Se considera al *U. occidentalis*, como una especie fitófaga. Su dieta está constituida por hojas, flores y frutos de las plantas que conforman a su hábitat; sin embargo, eventualmente pueden revertir a hábitos carnívoros cuando encuentran una presa muerta en las cercanías de las madrigueras (Solano, F., 2005).

El cangrejo rojo también contribuye a la oxigenación de los suelos ya que durante la construcción de sus madrigueras realizan una acción de remoción y aireación del fango; esto permite el intercambio de gases en el sustrato, lo que finalmente potencia la actividad de bacterias aeróbicas encargadas de la descomposición de la materia orgánica, equilibrando la dinámica bio-ecológica del sistema (Twilley, Pozo, Garcia, Zambrano, & Boderó, 1997).

1.5.2. Distribución

Se distribuye en el Pacífico Oriental desde la isla Espíritu Santo en Baja California, México, hasta la desembocadura del río Tumbes en Perú (Poma, 1996).

Figura 3: Distribución Geografía de *Ucides occidentalis* en el Océano Pacífico Oriental.



Fuente: Google Earth, 2015.

1.5.3. *Uciles occidentalis* en el Ecuador

En el Cantón Balao, Recinto 6 de Julio, Naranjal y Puerto Roma, en la Provincia del Guayas, aunque otras comunidades como El Salvador, Puerto El Morro, El Porvenir, El Guasmo y Puerto Hondo; realizan captura de cangrejos en menor escala, mientras que en la provincia de El Oro, las comunidades de Puerto Bolívar, Puerto Jelí, Bajo Alto y Hualtaco, están fuertemente asociadas con las actividades de captura de este crustáceo ya sea para la comercialización o por el turismo propio de cada localidad.

1.5.4. Hábitat de la especie

En el habita en que pasa esta especie de crustáceo, es en sustrato lodosos en manglares, lagunas y otros ambientes salobres cerca de las desembocaduras de ríos; ocasionalmente se encuentra en áreas no inundadas, pero próximas a cuerpos de aguas (Fisher, 1995). Construyen madrigueras que en su primera sección son verticales (20-30cm), y luego se sesgan para alcanzar mayor profundidades que pueden llegar hasta los 2m (Tazán & Wolf, 2000).

El hábitat preferido del cangrejo de los manglares son los “claros”, ubicados en zonas elevadas, denominado por los extractores como “altéales”, en donde las madrigueras son cubiertas por las mareas altas al menos una vez por mes; estas se ubican en las raíces del mangle rojo *Rhizophora mangle* (Poma, 1996), apreciándose ausencia de madrigueras en los rodales puros de mangle salado *Avicemia germinans* y de *Laguncularia racemosa* (Tazán & Wolf, 2000).

1.5.5. Comercialización de *Ucides occidentalis*

Se conoce de la existencia de importantes desembarques de este crustáceo en la Pitahaya provincia de El Oro y de la comercialización en menor escala en Esmeraldas, Atacames y Tonchigue (provincia de Esmeraldas).

1.5.5.1. Tipo de pesca

La captura de esta especie de cangrejo *Ucides occidentalis* se la realiza artesanalmente.

1.5.5.2. Arte de pesca

Tradicionalmente el cangrejo de manglar ha sido capturado sin el empleo de equipos o técnica alguna, sujetándolo con la mano y procurar manipular sin lesionarlo durante la extracción.

El cangrejo rojo está amenazado por varias actividades humanas, como la tala de mangle, la contaminación de los esteros, la construcción de langostineras, sobreexplotación por captura indiscriminada, falta de concientización, del conocimiento y del cumplimiento de la legislación.

El cangrejo rojo o cangrejo del manglar (*Ucides occidentalis*) es un crustáceo del orden decápoda (10 patas), tiene un caparazón que mide aproximadamente de 8 - 10 cm de ancho cuando es adulto. Puede vivir hasta 13 años. Hay diferencias entre machos (más grandes y tienen muchos pelos) y hembras (menor tamaño y tórax diferentes); sufre ecdisis, o sea, para su desarrollo necesita cambiar de caparazón. Solamente pueden ser capturados los machos que tienen caparazón de 6.5 cm de ancho (que para llegar a su tamaño comercial debe pasar de 4 a 5 años) pues, con esta talla ya están reproductivos (Twilley, Pozo, Garcia, Zambrano, & Boderó, 1997).

En el Ecuador se consume con fines alimenticios el cangrejo rojo y es de suma importancia investigar si existe o no la bioacumulación de metales pesados tóxicos como el Cadmio, Mercurio y el Plomo en este organismo de gran importancia comercial y así iniciar una línea base de concentraciones de (Cd, Hg y Pb), ya que mediante esta investigación se dará a conocer si el cangrejo rojo bioacumula estos elementos en el tejido blando del quelípedo y hepatopáncreas, al no haber trabajos referentes se debe apoyar el proyecto.

1.5.6. Efecto tóxico de los metales pesados en crustáceos

Entre los metales pesados más conocidos como contaminantes del ambiente acuático podemos encontrar algunos cuya acción es eminentemente tóxica como el mercurio (Hg), cadmio (Cd), plomo (Pb), y otros como el hierro (Fe), el (Zn) y el cobre (Cu) que son esenciales para la vida humana y animal ya que participan en importantes reacciones enzimáticas como cofactores de las enzimas, pero a elevadas concentraciones pueden resultar tóxicos (Capó, 2002).

En investigaciones realizadas por (Soegianto, Charmantier-Daures, Trilles, & Charmantier, 1999) se determinó que la acumulación de metal es más rápida que su eliminación, y esto es probablemente debido a la presencia de proteínas de unión de

metal en los tejidos. (Kamaruzzaman B. , Akbar, Maryam, Jalal, & Shahbuddin, 2012), realizaron un estudio para evaluar los niveles de bioacumulación de metales pesados (cobre, zinc, cadmio y plomo) en diferentes partes del cuerpo (caparazón, garra, patas caminadoras y el tracto intestinal) del cangrejo *Scylla serrata* en el que se determinaron concentraciones medias de Pb en caparazón, garras, patas para caminar y viscerales de $7.17 \pm 0.46 \mu\text{g.g}^{-1}$, $6.27 \pm 0.75 \mu\text{g.g}^{-1}$, $6.52 \pm 0.37 \mu\text{g.g}^{-1}$ y $2.27 \pm 0.82 \mu\text{g.g}^{-1}$, respectivamente, las concentraciones medias de Cd en caparazón, garras, patas para caminar y viscerales fueron $0.68 \pm 0.05 \mu\text{g.g}^{-1}$, $0.42 \pm 0.05 \mu\text{g.g}^{-1}$, $0.35 \pm 0.04 \mu\text{g.g}^{-1}$ y $0.13 \pm 0.05 \mu\text{g.g}^{-1}$, respectivamente, en este estudio se observó que el exoesqueleto contiene el más alto nivel de Cd.

Los crustáceos decápodos son el grupo marino más sensible en pruebas a corto plazo considerando que el cadmio provoca efectos adversos en los cangrejos, por ejemplo en las especies *Uca annulipes* y *Uca triangularis* se ha notado una respuesta inhibitoria en la tasa de respiración de estos crustáceos (Botello, Rendón Von Osten, G, & Agraz-Hernández, 2005).

En estudios realizados por (Jennings & Rainbow, 1979), se determinó que el primer órgano en el que se acumula el Cadmio es el exoesqueleto ya que tiene propiedades químicas similares al calcio (Ca), el componente principal del exoesqueleto, por lo tanto, el Cd puede reemplazar el Ca al entrar en el cuerpo a través del exoesqueleto.

1.6. MARCO LEGAL

En uso de las facultades legales, y demás normativa de carácter secundaria; la Subsecretaría de Recursos Pesqueros, acuerda:

Art. 1.- Reformar el artículo 1 del Acuerdo Ministerial N°. 016 del 03 de febrero de 2004, publicado en el Registro Oficial N° 284 del 3 de marzo de 2004, en lo que respecta únicamente a la duración de veda de reproducción del cangrejo rojo *Ucides occidentalis* estableciéndose el nuevo periodo de veda en todo el territorio nacional para la captura, transporte, posesión, procesamiento y la comercialización interna y externa de dicha especie desde las cero horas del 01 de marzo hasta las 24 horas del 31 de marzo de cada año, lapso durante el cual se considera los períodos de precortejo y

cópula, actividades biológicas que se realizan exclusivamente en el exterior de las madrigueras, siendo vulnerables a una sobre captura, que no permite la normal reproducción de esta especie.

Art. 2.- Reformar el artículo 2 del Acuerdo Ministerial N°. 030, publicado en el Registro Oficial N° 130 el 22 de julio del 2003, estableciéndose únicamente para el cangrejo de la especie *Ucides occidentalis* (cangrejo rojo) la nueva talla mínima de ancho del cefalotórax en 7.5 cm.

El Acuerdo Ministerial 004, del 13 de enero del 2014, establece la talla mínima de cangrejo rojo de 7.5 cm de ancho de cefalotórax y prohíbe la captura, transporte, posesión, procesamiento y la comercialización interna y externa del recurso en época de veda.

Art. 4.-Quienes infringieren las disposiciones del presente acuerdo, serán sancionados por las infracciones tipificadas en el artículo 46, literal b) de la Ley de Pesca y Desarrollo Pesquero, con las penas establecidas en el artículo 79 de la misma ley, sin perjuicio de las sanciones que establezcan otras normativas vigentes (Gena., 2004).

1.7. ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

La espectroscopia de absorción atómica es un método utilizado para la detección y la determinación de elementos químicos, particularmente de elementos metálicos (Harold, 2005). Esta técnica se basa en el fenómeno de absorción atómica de la energía radiante que llega a los átomos de la muestra. Un espectrofotómetro de absorción atómica consta de los siguientes elementos:

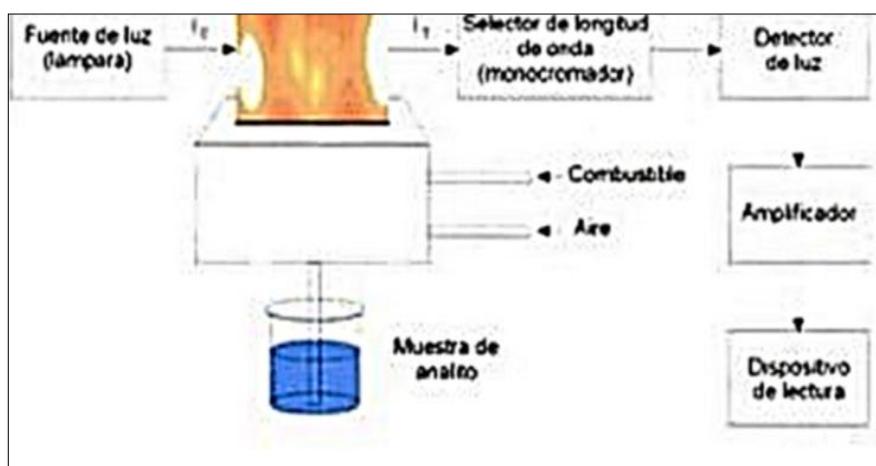
- **Fuente de emisión.** Sistema de absorción. Donde tiene lugar la absorción de la radiación de la fuente de emisión por el vapor atómico generado a partir de una disolución de la muestra a analizar. Un dispositivo nebulizador se encarga de convertir la muestra en un aerosol del tamaño de partícula suficientemente pequeño, que una vez en el interior del recinto, llamado cámara de premezcla, se mezcla con los gases oxidantes y combustible que se quemarán posteriormente en un mechero. La llama generada en el mechero debe suministrar la energía

suficiente para romper las uniones del elemento metálico dando lugar a una nube de átomos libres en estado fundamental.

- **Selector de longitud de onda.** Fuente de emisión. Capaz de emitir las líneas del espectro característico del elemento a analizar, cuya radiación se dirige hacia una nube de vapor atómico.
- **Sistema fotométrico.** Consistente en un tubo fotomultiplicador que genera una corriente proporcional a la radiación que recibe, se mide la absorción que ha tenido lugar en la llama. Esta señal queda recogida sobre el papel mediante un registrador.
- **Selector de longitud de onda.** Permite aislar la línea del espectro correspondiente al elemento a determinar, de forma que sólo esta línea se enfoque sobre el detector (Floría, 2007).

Es un método instrumental que se basa en la absorción, emisión y fluorescencia de radiación electromagnética por partículas atómicas. Se emplean principalmente radiaciones del espectro ultravioleta (UV) y visible y Rayos X. Consiste en la medición de las especies atómicas por su absorción a una longitud de onda particular. La especie atómica se logra por atomización de la muestra. La técnica de atomización más usada es la absorción atómica con flama o llama, que nebuliza la muestra y luego la disemina en forma de aerosol dentro de una llama de aire de acetileno u óxido nitroso-acetileno (Arboleda, 2011).

Figura 4: Esquema de bloques de un espectrofotómetro de absorción atómica.



Fuente: (Aldabe, 2004).

Cuando las muestras se encuentran en disolución acuosa, el análisis no presenta problemas a un buen instrumentalista.

Pero cuando existe materia orgánica pueden producirse respuestas erróneas. En casos en que la concentración del elemento sea muy pequeña hay que recurrir a operaciones de enriquecimiento mediante formación de complejos con reactivos orgánicos (Repetto, 2009).

Algunos elementos de gran interés toxicológico como el As, Sb, etc. Presentan dificultades en su determinación por EAA, lo cual ha sido resuelto mediante la formación del hidruro del elemento, y su determinación espectrofotométrica en estado de vapor sin el uso de llama he aquí el nombre espectrofotometría sin llama o sistema de hidruros metálicos (SIIM). La misma técnica es aplicable al Hg, con el nombre de espectrofotometría de vapor frío (Repetto, 2009).

1.7.1. Espectrofotometría de absorción atómica a la flama

La espectrometría de absorción atómica se basa en el principio de que los átomos libres absorben la luz a longitudes de onda características del elemento que se desea estudiar, la cantidad de luz absorbida se puede correlacionar de manera lineal con la concentración del analito en la muestra (Organización Mundial de la Salud., 2013).

- **Las ventajas** fundamentales de la utilización de la llama como fuente de excitación son que los espectros son muy sencillos y que los resultados cuantitativos tienden a ser más reproducibles, los espectros son sencillos debido a la baja energía de excitación de la llama que da lugar a pocas líneas de emisión, este hecho hace disminuir el problema de las interferencias espectrales a partir de líneas y bandas de otros elementos y además no implica la necesidad de un monocromador de elevada resolución, la mayor reproducibilidad cuando se utiliza este método.
- **Las dos desventajas** más importantes de los métodos de emisión en llama son que la energía de excitación es demasiado baja para la mayoría de los elementos y que la muestra debe estar disuelta. En absorción atómica la baja energía no es una desventaja tan importante ya que la misión de la llama; en ese caso, es únicamente atomizar la muestra y formar un vapor de átomos sin excitar; por

esta razón es aplicable a un mayor número de elementos que la fotometría de llama (Capelo, 2013).

Los límites de detección de la espectrometría de absorción atómica por llama son modestos, pero suficientes en la mayoría de los casos. Como el método requiere la aspiración directa de la muestra, se necesita una solución obtenida por digestión para la aspiración y la medición de una señal estable.

Los equipos requieren escaso mantenimiento y tienen capacidad para procesar varias muestras por minuto (Organización Mundial de la Salud., 2013).

1.7.2. Espectrofotometría de absorción atómica con generador de hidruros (GH-EAA)

La Espectrometría de Absorción Atómica de Llama (FAAS) es una técnica sencilla, conocida desde hace mucho tiempo y claramente “arsenoselectiva”, sin embargo, los límites de detección con esta técnica no son lo suficientemente bajos como para llevar a cabo la determinación de arsénico en la mayoría de las muestras reales.

El acoplamiento de un generador de hidruros al espectrómetro de absorción atómica (GH-AAS) aporta la sensibilidad requerida (Anexo 4).

La técnica de GH-AAS consta de tres etapas fundamentales: la generación y volatilización del hidruro, la transferencia del mismo y su posterior atomización en el espectrómetro de AA. La generación del hidruro, en el presente trabajo se consigue, tratando la muestra que contiene arsénico con una disolución de Borohidruro de sodio NaBH_4 en medio ácido HCl (Morand, Giménez, Benitez, & Garro, 2002) .

1.7.3. Producción de la Nube Atómica (Sistema Nebulizador-Quemador)

El sistema nebulizador – quemador. Cuenta con un mecanismo de aspersión que succiona la muestra convirtiéndola en un aerosol haciéndola pasar a través de una cámara donde es impactada varias veces. De ahí pasa a una cámara de mezcla por la cual entran el gas oxidante y el gas combustible. Una vez realizada la mezcla, pasa al quemador donde está encendida la flama para que se produzca el vapor atómico.

Dependiendo de la temperatura de la flama a utilizar se usará un quemador distinto (Marquez, 2009) (Figura 5, 6 y 7).

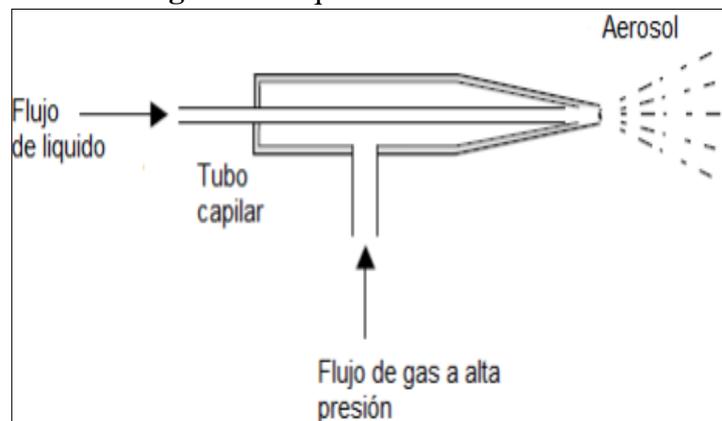
Los tipos de flama más utilizados son:

Tabla 2: Temperatura de los gases.

OXIDANTE	COMBUSTIBLE	TEMPERATURA
Aire	Propano	2200 °C
Aire	Acetileno	2450 °C
Óxido nitroso N ₂ O	Acetileno	3200 °C

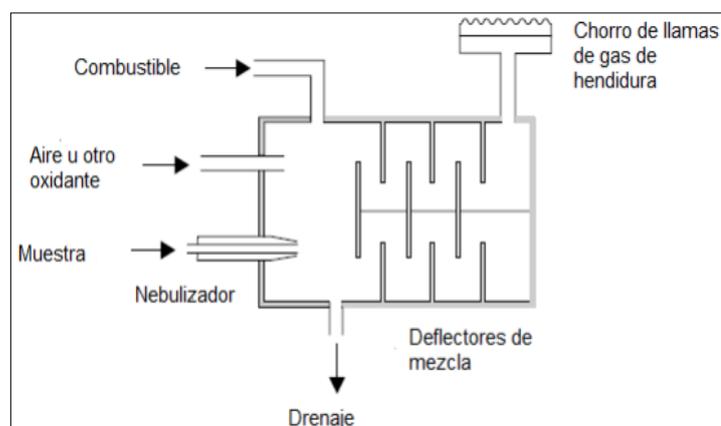
Fuente: (Marquez, 2009).

Figura 5: Esquema del nebulizador.



Fuente: (University, 2004).

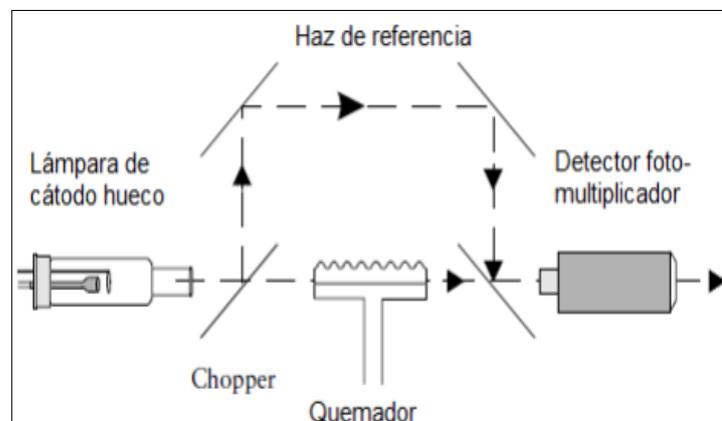
Figura 6: Mezcla de combustible, muestra y oxidante antes de la combustión.



Fuente: (University, 2004).

Las gotitas finas del disolvente en la sustancia analizada (que es casi siempre agua) se evaporan muy rápidamente a estas temperaturas. La sal del metal, a su vez se evapora y este se reduce a las altas temperaturas con experiencia dentro de la llama para completar el proceso de atomización. La GRUPO GERH UTP 20 llama tiene una forma que permite que la radiación incidente que pasa a través de un suministro continuo de la muestra atomizada, (Figura 7). Un detector (que es normalmente un tubo fotomultiplicador) se puede controlar la intensidad de la radiación y por lo tanto la absorción (University, 2004).

Figura 7: Esquema de la llama del espectrofotómetro de absorción atómica.



Fuente: (University, 2004).

1.7.4. Aplicaciones de espectrofotetría

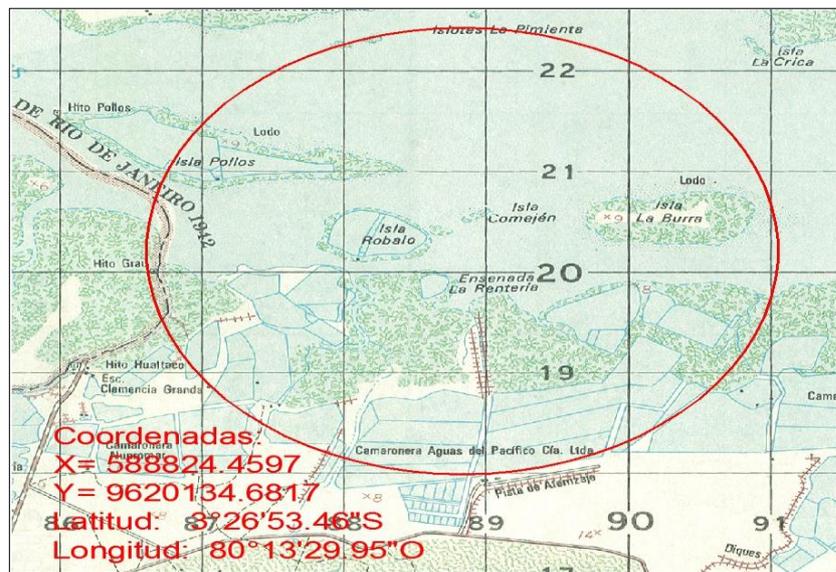
Sus campos de aplicación son, por tanto, muy diversos. Este método se puede aplicar para la determinación de ciertos metales tales como: antimonio, Cd, calcio, cesio, cromo, cobalto, oro, Pb, níquel, entre otros. Se emplea en el análisis de aguas, análisis de suelos, bioquímica, toxicología, medicina, industria farmacéutica, industria alimenticia, industria petroquímica, etc. (Harold, 2005).

2. METODOLOGÍA

2.1. ÁREA GEOGRÁFICA DE ESTUDIO

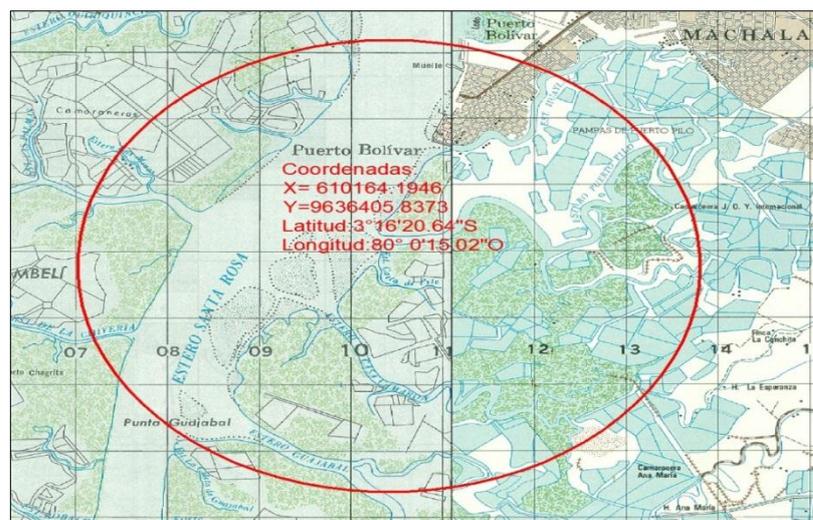
Se seleccionaron tres áreas de estudio para realizar esta investigación tales como: Puerto Hualtaco, Puerto Bolívar y Bajo Alto (Figura 8, 9 y 10).

Figura 8: Visión Geográfica de Puerto Hualtaco.



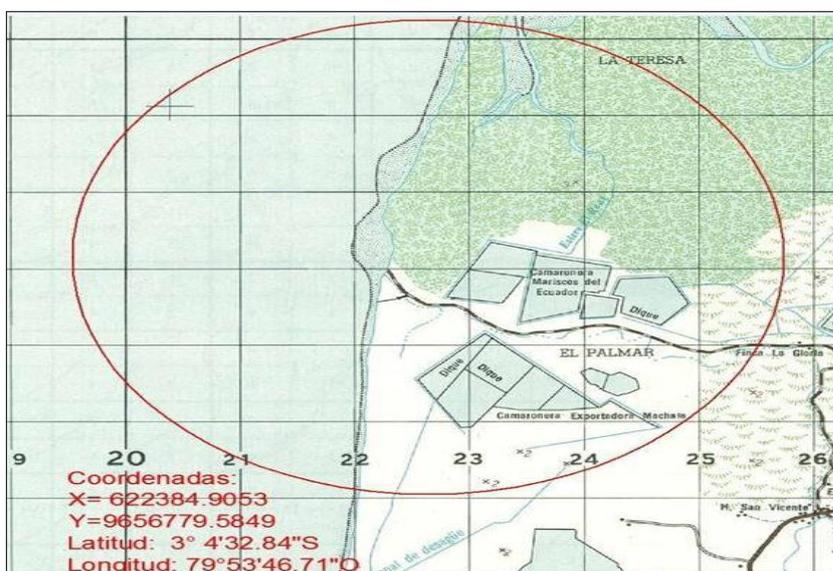
Fuente: Instituto Geográfico Militar, 2015.

Figura 9: Visión Geográfica de Puerto Bolívar.



Fuente: Instituto Geográfico Militar, 2015.

Figura 10: Visión Geográfica de Bajo Alto.

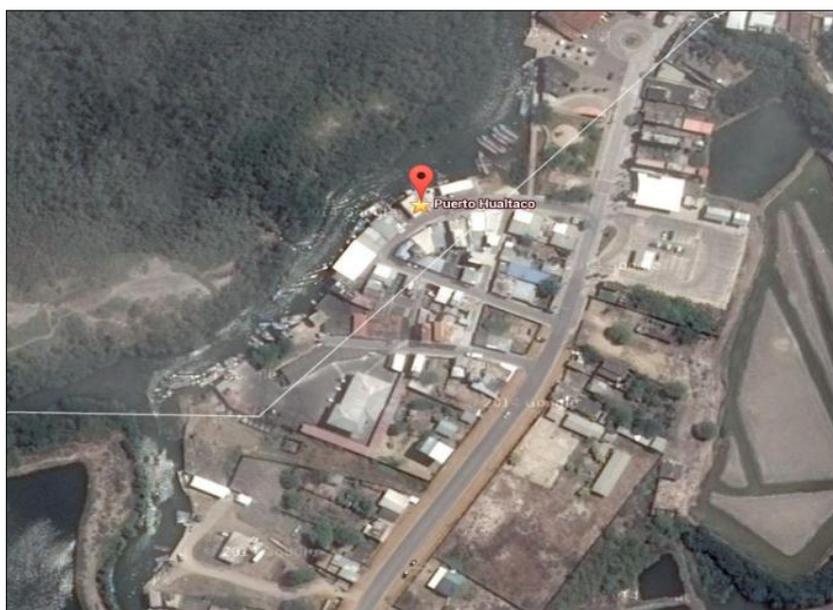


Fuente: Instituto Geográfico Militar, 2015.

2.2.CAPTURA DE ORGANISMOS EN LAS LOCALIDADES DE MUESTREO

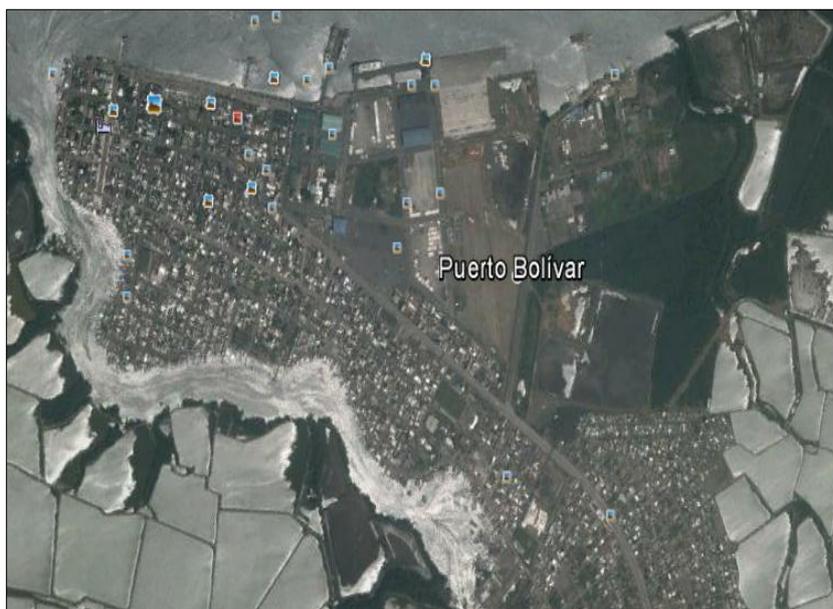
Los cangrejos son capturados manualmente, en las tres localidades del perfil costero de la provincia de El Oro; Puerto Hualtaco, Puerto Bolívar y Bajo Alto (Figura 11, 12 y 13).

Figura 11: Imagen Satelital de la localidad de Puerto Hualtaco.



Fuente: Google Earth, 2015.

Figura 12: Imagen Satelital de la localidad de Puerto Bolívar.



Fuente: Google Earth, 2015.

Figura 13: Imagen Satelital de la localidad de Bajo Alto.



Fuente: Google Earth, 2015.

2.3. TÉCNICA E INSTRUMENTOS UTILIZADOS.

Para determinar el contenido de mercurio, cadmio y plomo se lo realizo mediante el método de espectrofotometría de absorción atómica de flama, empleando el espectrofotómetro Shimadzu AA 6300.

2.4. Materiales y Equipos

2.4.1. Materiales de campo y de Laboratorio

- Guantes
- Cámara fotográfica
- Gancho de fierro
- Fundas auto cierre
- GPS
- Mascarilla antigases
- Bisturí
- Vasos de precipitación 100ml
- Tubos de ensayo
- Gradillas
- Balones aforados de 25ml, 50ml, 250ml, 500ml
- Pipetas graduadas de 10ml
- Probetas de 10ml; 100ml; 1000ml
- Micro pipetas de 0.5-10 μ l; 10-100 μ l; 100-1000 μ l
- Embudos
- Papel filtro
- Calibrador Vernier
- Piseta
- Desecador
- Cocineta eléctrica
- Termómetro

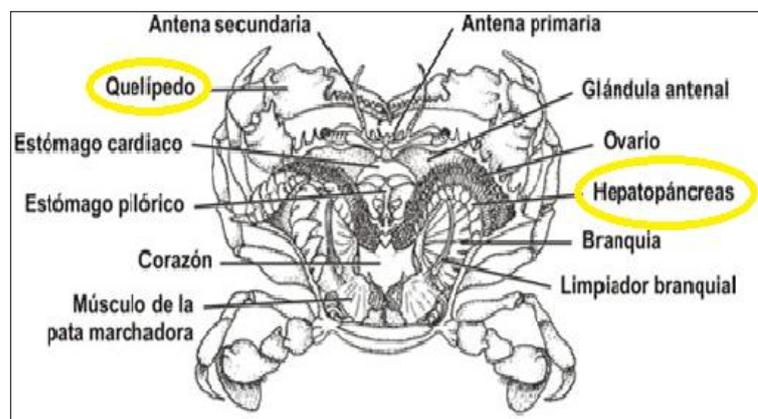
2.4.2. Equipos y reactivos de laboratorio

- Estufa.
- Destilador de agua
- Desionizador de agua
- Balanza analítica
- Espectrofotómetro de Absorción Atómica
- Ácido Nítrico grado analítico al 64%
- Ácido Sulfúrico grado analítico al 97%
- Ácido Clorhídrico grado analítico al 37%
- Hidroxilamina al 5%
- Permanganato de potasio al 10%
- Estándar de Mercurio (Hg) de 1000 ppm
- Estándar de Cadmio (Cd) de 1000 ppm
- Estándar de Plomo (Pb) de 1000 ppm

2.5. PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Al momento que se tenga la muestra congelada, se realizara el tratamiento previo en donde se procede a su descongelación no forzada (temperatura ambiente y/o refrigeración). Una vez totalmente descongelada, se pesa al cangrejo y con un calibrador vernier se toman las medidas morfométricas, se eliminan caparazones u otras partes del exoesqueleto y tracto digestivo visible. Después se lava con agua destilada, se deja que escurra, para lo cual se realizara la disección y poder extraer el tejido de la parte de hepatopáncreas y el músculo de los quelípedos (pinzas) (Anexos 1).

Figura 14: Partes del cangrejo rojo seleccionada para el análisis.



Fuente: Web-site.

2.5.1. Ingreso de las Muestras al Laboratorio para su análisis.

Para trabajar de forma ordenada en el laboratorio se procede a generar un código interno para identificación de cada uno de los recipientes que contiene el tejido de la parte del hepatopáncreas y el quelípodo de los cangrejos hembras y machos, para que no exista confusión y así proceder a realizar el análisis experimental.

2.5.2. Preparación de las Muestras para análisis.

Se procedió a pesar en un recipiente cerca de 2 a 5 gr de la muestra en una balanza analítica y fue llevada a una estufa a 40 °C por 48 horas, luego fue sometida a digestión ácida con 3 ml de (HNO₃ conc), se dejó reposar en la campana extractora de gases 24 horas. Finalizado el tiempo de digestión las muestras fueron sometidas a calor, se empleó el baño maría a una temperatura de 50 a 60 °C para eliminación de materia orgánica que se encuentra en las paredes del recipiente (Anexos 2 y 3).

Luego se filtraron las muestras, usando un embudo de filtración y con papel filtro NM 615. Ø 125mm, recogiendo lo filtrado en unos balones aforados de 25 ml para luego enrazar con agua desionizada (Feys, 2013).

2.6.PREPARACIÓN DE MUESTRA Y DISOLUCIÓN DE ESTÁNDARES DE MERCURIO, CADMIO Y PLOMO

2.6.1. Disolución de muestra para lecturas de Hg

Al realizar pruebas preliminares se determinó que la mejor disolución, es tomar 8 ml de muestra, agregar a la misma 1 ml de ácido sulfúrico concentrado y ½ de clorhídrico, posteriormente se coloca aproximadamente 10 gotas de permanganato de potasio agitando poco a poco volviéndose la muestra de un color morado, luego se le agrega 4 gotas de hidroxilamina hasta que el color regrese a su normalidad por varios y realizar las lecturas en el espectrofotómetro de absorción atómica con la técnica de generación de vapor de hidruros (GH-AAS).

2.6.1.1. Preparación de estándar

Mediante la fórmula $C_1 V_1 = C_2 V_2$, se procedió a calcular 50 ml de solución de 2000 ppb, para lo cual se tomó 100 µl del estándar de Hg que posee 1000 µg/ml y se agregó unas gotas de HNO₃ al 10%, y con la solución preparada se realizó los estándares de 10, 30,40, 50 y 60 ppb, lo cual se detalla en la siguiente tabla:

Tabla 3: Volumen de concentraciones de estándares de Mercurio.

Concentración (ppb) µg/l	Volumen (µl solución 2000 ppb)
10	250
30	750
40	1000
50	1250
60	1500

Fuente: Chuquimarca, 2015.

2.6.2. Disolución de muestra para lecturas de Cd

Se toma un volumen aproximado de 5ml de muestra, sin colocar ningún reactivo adicional y se realiza la lectura por espectrofotometría de absorción atómica a la llama (FAAS), este tipo de lectura se realiza con mayor rapidez ya que el equipo absorbe directamente la muestra llevándola al nebulizador y así poder realizar el análisis en comparación a GH-AAS.

2.6.2.1. Preparación de estándares

Aplicando la fórmula $C_1 V_1 = C_2 V_2$ se calcula el volumen que se requiere utilizar del estándar de la solución original la cual contiene 1000 $\mu\text{g/ml}$ Cd, luego se preparó concentraciones de 0.1, 0.4, 0.5, 0.8, 1.5 ppm, se enrasa cada concentración de estándar a un matraz aforado de 50 ml, agregándole una gota de HNO_3 concentrado, el volumen de solución original necesario para preparar cada uno de estos estándares se detallan en la siguiente tabla:

Tabla 4: Volumen de concentraciones de estándares de Cadmio.

Concentración (ppm) $\mu\text{g/ml}$	Volumen (μl solución 1000 ppm de Cd)
0.1	5
0.4	20
0.5	25
0.8	40
1.5	75

Fuente: Chuquimarca, 2015.

2.6.3. Disolución de muestra para lecturas de Pb

Se procede a realizar de la misma manera que en la lectura de Cd, tomando aproximadamente 5 ml de muestra y realizando la lectura por espectrofotometría de absorción atómica a la llama (FAAS).

2.6.3.1.Preparación de estándares

Se procede a realizar de la misma manera como en el caso de Cd aplicando la formula $C_1 V_1 = C_2 V_2$, se calcula el volumen que se requiere utilizar del estándar de la solución original la cual contiene 1000 $\mu\text{g/ml}$ Pb, luego se preparó concentraciones de 1, 2, 3 y 4 ppm, se enrasa cada concentración de estándar a un matraz aforado de 50 ml, agregándole una gota de HNO_3 concentrado, el volumen de solución original necesario para preparar cada uno de estos estándares se detallan en la siguiente tabla:

Tabla 5: Volumen de concentraciones de estándares de Plomo.

Concentración (ppm) $\mu\text{g/ml}$	Volumen (μl solución 1000 ppm de Pb)
1	50
2	100
3	150
4	200

Fuente: Chuquimarca, 2015.

2.7. Método de análisis de los metales

La Espectrometría de Absorción Atómica es una técnica analítica que se ha usado extensivamente para la determinación de metales totales en la matriz de sedimentos y organismos. Su sensibilidad alcanza 0,029 mg/Kg, suficientes para el análisis de la mayor parte de los metales trazas, existen metales en donde el equipo no puede detectar porque están bajo el limite permisible de detección del equipo. (Siavichay, 2013).

2.8. Procedimiento del espectrofotómetro de absorción atómica para el análisis de determinación de metales

1. Se prende el Espectrofotómetro de absorción atómica se deja que calienten las lámparas, se revisa que la presión de los gases estén dentro de los parámetros requeridos por el equipo.

2. Se prepara el sistema de generación de hidruros para su operación de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Deberán, así mismo, ser optimizados: la concentración de los reactivos a utilizar, los caudales de líquido y del gas de purga (argón o nitrógeno), para obtener el máximo rendimiento de la configuración de cada sistema.
3. Se instala la célula de cuarzo en el campo óptico del espectrofotómetro utilizando en cada caso el sistema de ensamblaje proporcionado. El calentamiento de la célula puede ser electro térmico o por llama. En este último caso el carácter de la llama deberá ser oxidante.
4. Se dispone el AAS en condiciones de medir y se elige la longitud de onda de medida. En el caso del plomo es recomendable utilizar la línea de absorbancia 217 nm (Kirk & Egan, 1999).
5. Ajustar el instrumento de absorción atómica en las condiciones adecuadas para la determinación de Hg con una longitud de onda de 253,7 nm, para el Cadmio con una longitud de onda de 228.8 nm y para Plomo con una longitud de onda de 283.3 nm.

2.8.1. Equipo Utilizado para el análisis

Se realizó el análisis de determinación de metales en el espectrofotómetro de absorción atómica marca Shimadzu AA 6300 instalado en el Laboratorio de Investigación de la Unidad Académica de Ciencias Químicas y de la Salud de la Universidad Técnica de Machala (Figura 15).

Figura 15: Espectrofotómetro de absorción atómica (AAS)



Fuente: Laboratorio de Investigación UACQyS.

Tabla 6: Límites y método de detección para Hg, Pb, Cd, en Espectrofotometría de absorción atómica (SHIMADZU AA-6300).

	Plomo	Cadmio	Mercurio
Límite de Detección	0.16 mg/l	0.025 mg/l	1.8 µg/l
Método	FAAS	FAAS	GH-AAS

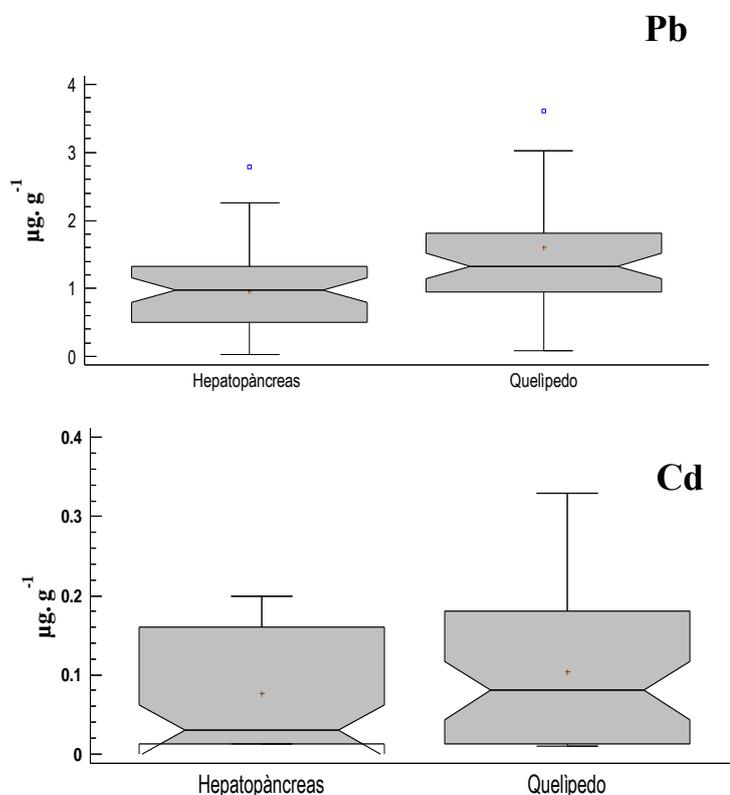
Fuente: Chuquimarca, 2015.

3. RESULTADOS

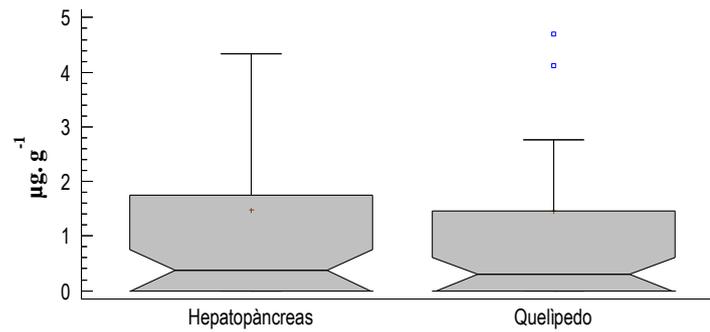
3.1. ANÁLISIS DE TEJIDO DEL HEPATOPÁNCREAS Y QUELÍPEDOS DE *Ucides occidentalis*

Se analizaron 100 muestras de *Ucides occidentalis* de machos y hembras provenientes de 3 localidades de muestreo: Puerto Hualtaco, Puerto Bolívar y Bajo Alto, demostrándose que no existen diferencias significativas en la bioacumulación de Cd y Hg entre el músculo del quelípedo y el hepatopáncreas ($W_{Cd} = 1,41$; $P_{Cd} = 0,25$ y $W_{Hg} = 1,22$; $P_{Hg} = 0,87$ respectivamente) Tabla 7, sin embargo, para el Pb se determinó que el músculo de quelípedo tienen una concentración significativamente mayor ($W_{Pb} = 1,67$; $P_{Pb} = 0,0031$) con respecto al hepatopáncreas, (Figura 16).

Figura 16: Pb, Cd y Hg en Hepatopáncreas y Quelípedo de *Ucides occidentalis* provenientes de tres localidades del perfil costero de la provincia de El Oro.



Hg



Fuente: Chuquimarca, 2015.

Para el Pb en hepatopáncreas la concentración promedio fue de $0,96 \pm 0,61 \mu\text{g. g}^{-1}$ y para el quelípedo $1,59 \pm 1,52 \mu\text{g. g}^{-1}$ mostrando diferencias estadísticamente significativas, mientras que para el Cd la concentración promedio en el hepatopáncreas fue de $0,08 \pm 0,07 \mu\text{g. g}^{-1}$ y para el músculo de quelípedo $0,10 \pm 0,09 \mu\text{g. g}^{-1}$ por lo cual no hay diferencia estadísticamente significativa, en el caso del Hg en el hepatopáncreas nos da $1,47 \pm 2,71 \mu\text{g. g}^{-1}$ y en el músculo de quelípedo es de $1,47 \pm 2,47 \mu\text{g. g}^{-1}$ (Tabla 7).

Tabla 7: Resumen estadístico de concentraciones de Pb, Cd y Hg para hepatopáncreas y músculo de quelípedos de *Ucides occidentalis*.

	Plomo ($\mu\text{g. g}^{-1}$)		Cadmio ($\mu\text{g. g}^{-1}$)		Mercurio ($\mu\text{g. g}^{-1}$)	
	Hepatop	Quelíp	Hepatop	Quelíp	Hepatop	Quelíp
Promedio	0,96	1,59	0,08	0,10	1,47	1,47
Desviación Estándar	0,61	1,52	0,07	0,09	2,71	2,47
Coefficiente de variación	63,69%	94,89%	98,16%	90,77%	184,36%	168,69%
Mínimo	0,03	0,08	0,0125	0,01	0	0
Máximo	2,79	9,21	0,2	0,33	12,26	9,99
Mann-Whitney	W = 1,67 ; P = 0,0031		W = 1,41 ; P = 0,25		W = 1,22 ; P = 0,87	

Fuente: Chuquimarca, 2015.

3.2. ANÁLISIS DE PLOMO, CADMIO Y MERCURIO EN HEPATOPÁNCREAS Y MÚSCULO DE QUELÍPEDO POR SEXO

Los niveles de concentración de Pb en el hepatopáncreas de *Ucides occidentalis* machos fue de $1,15 \pm 0,55 \mu\text{g. g}^{-1}$ evidenciando diferencia estadísticamente significativa en relación al tejido de hepatopáncreas hembras $0,76 \pm 0,63 \mu\text{g. g}^{-1}$, sin embargo para el músculo de quelípedos en machos la concentración promedio fue de $2,05 \pm 1,89 \mu\text{g. g}^{-1}$ en relación a las hembras que tuvieron un valor menor de $1,11 \pm 0,75 \mu\text{g. g}^{-1}$, para Cd las concentraciones en el tejido de hepatopáncreas en machos y hembras no muestran estadísticamente una diferencia muy significativa ($0,05 \pm 0,07 \mu\text{g. g}^{-1}$ y $0,10 \pm 0,07 \mu\text{g. g}^{-1}$ respectivamente) y de la misma forma en el músculo de quelípedos las concentraciones promedios estadísticos no presentan diferencias significativas $0,06 \pm 0,09 \mu\text{g. g}^{-1}$ en machos y $0,15 \pm 0,08 \mu\text{g. g}^{-1}$ en hembras. El Hg tiene una concentración significativamente mayor de $1,90 \pm 2,65 \mu\text{g. g}^{-1}$ en el hepatopáncreas en machos y para hembras de $1,002 \pm 2,75 \mu\text{g. g}^{-1}$, en el músculo de quelípedos no muestra diferencia entre ambos sexos (Tabla 8).

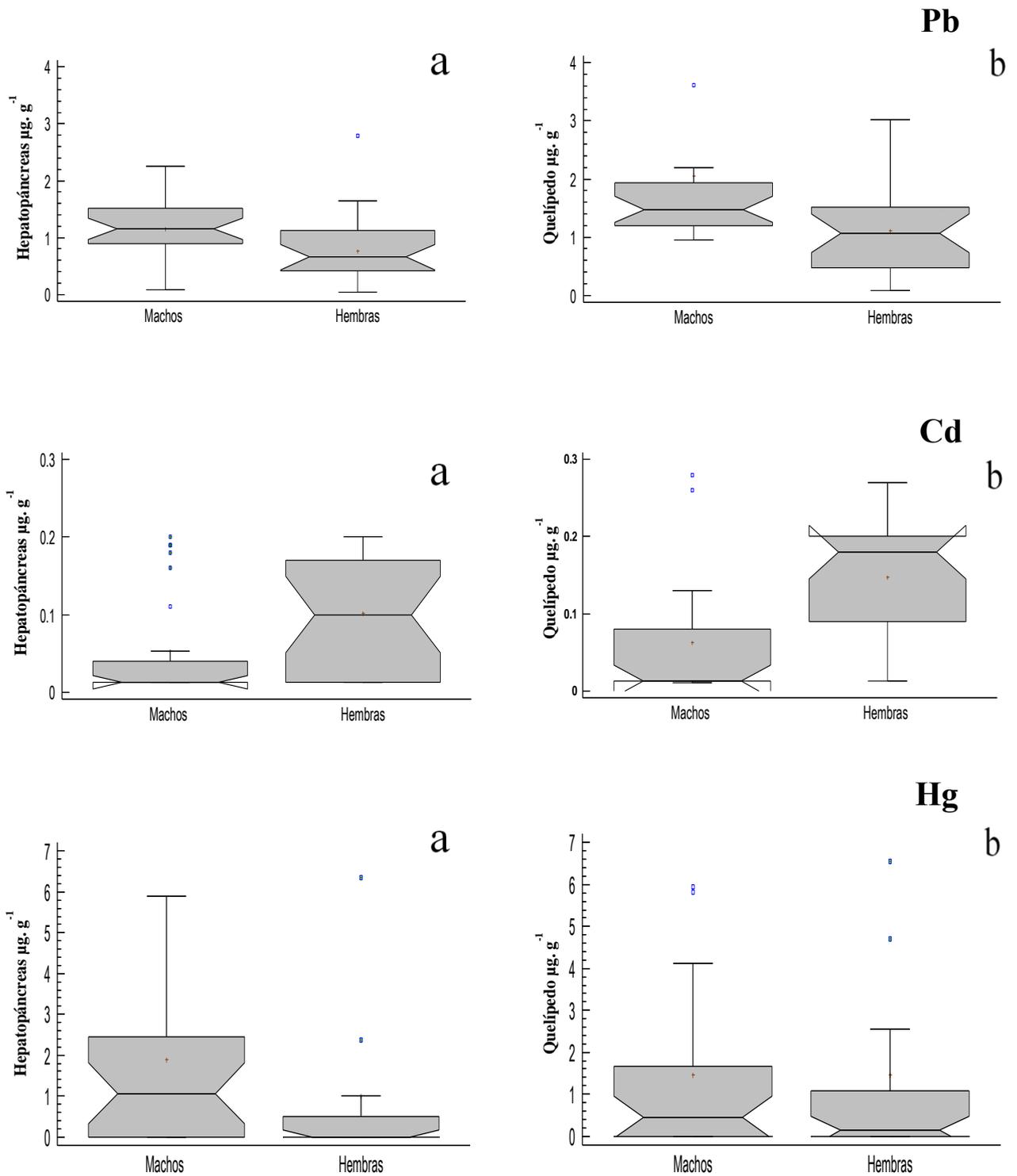
Tabla 8: Resumen estadístico de los niveles de Pb, Cd y Hg en hepatopáncreas y en músculo de quelípedos de machos y hembras de *Ucides occidentalis*.

		Macho	Hembra	Mann-Whitney
		$\bar{x} \pm \text{SD}$	$\bar{x} \pm \text{SD}$	
		($\mu\text{g. g}^{-1}$)	($\mu\text{g. g}^{-1}$)	
PLOMO	Hepatop	$1,15 \pm 0,55$	$0,76 \pm 0,63$	W= 172,5 ; P = 0,007
	Quelip	$2,05 \pm 1,89$	$1,11 \pm 0,75$	W = 171,5 ; P = 0,0064
CADMIO	Hepatop	$0,05 \pm 0,07$	$0,10 \pm 0,07$	W = 420,5 ; P = 0,03
	Quelip	$0,06 \pm 0,09$	$0,15 \pm 0,08$	W = 499,5 ; P = 0,00022
MERCURIO	Hepatop	$1,90 \pm 2,65$	$1,002 \pm 2,75$	W = 180,5 ; P = 0,0082
	Quelip	$1,46 \pm 2,20$	$1,47 \pm 2,79$	W = 278,0 ; P = 0,49

Fuente: Chuquimarca, 2015.

Figura 17: Niveles de Plomo, Cadmio y Mercurio en la especie de *Ucides occidentalis*,

a) Hepatopáncreas; b) Quelípedo.



Fuente: Chuquimarca, 2015.

3.3. ANÁLISIS DE PLOMO, CADMIO Y MERCURIO EN HEPATOPÁNCREAS Y MÚSCULO DE QUELÍPEDO EN LAS TRES LOCALIDADES DE MUESTREO

3.3.1. Niveles de Pb, Cd y Hg en machos

Las concentraciones de Pb en hepatopáncreas y en el músculo de quelípedo en machos de la especie *Ucides occidentalis* de las tres localidades de muestreo no detallan estadísticamente diferencias significativas, ya que el valor de P de Kruskal-Wallis de ambos tejidos fue de ($K_{\text{Hep}}= 2,12$; $P_{\text{Hep}} = 0,35$ y $K_{\text{Quel}}= 3,99$; $P_{\text{Quel}} = 0,14$), siendo mayor que 0.05 dando un nivel de 95% de confianza, sin embargo en concentraciones de Cd nos muestra estadísticamente que existe diferencia significativa en el hepatopáncreas y en el músculo de quelípedo ($K_{\text{Hep}}= 12,01$; $P_{\text{Hep}} = 0,002$ y $K_{\text{Quel}}= 9,71$; $P_{\text{Quel}} = 0,007$) en las tres localidades, sin embargo las concentraciones promedio en hepatopáncreas en Bajo Alto fue de $0,11 \pm 0,091 \mu\text{g. g}^{-1}$ y en el músculo de quelípedo $0,11 \pm 0,14 \mu\text{g. g}^{-1}$, mayor que Hualtaco $0,012 \pm 0 \mu\text{g. g}^{-1}$ en hepatopáncreas y $0,013 \pm 0 \mu\text{g. g}^{-1}$ en el músculo de quelípedo y de la misma forma Puerto Bolívar que en hepatopáncreas nos da $0,04 \pm 0,03 \mu\text{g. g}^{-1}$ y en el músculo de quelípedo $0,080 \pm 0,05 \mu\text{g. g}^{-1}$.

Los niveles de Hg no tienen diferencia estadísticamente significativa entre localidades, teniendo un valor de Kruskal-Wallis ($K_{\text{Hep}}= 3,86$; $P_{\text{Hep}} = 0,14$ y $K_{\text{Quel}}= 5,17$; $P_{\text{Quel}} = 0,08$ respectivamente), en cambio en sus concentraciones promedio en Bajo Alto en hepatopáncreas fue de $2,273 \pm 2,43 \mu\text{g. g}^{-1}$ con relación a hepatopáncreas de Puerto Hualtaco que muestra $2,51 \pm 3,46 \mu\text{g. g}^{-1}$ siendo sus concentraciones similares, a diferencia de Puerto Bolívar que fueron bajas dando $0,56 \pm 0,74 \mu\text{g. g}^{-1}$, por otra parte en el músculo de quelípedo en la localidad de Bajo Alto su concentración promedio dio $2,59 \pm 2,84 \mu\text{g. g}^{-1}$ en comparación a las localidades de Puerto Hualtaco $0,85 \pm 1,85 \mu\text{g. g}^{-1}$ y Puerto Bolívar que fue de $0,89 \pm 1,17 \mu\text{g. g}^{-1}$ (Tabla 9).

Tabla 9: Resumen estadístico de niveles de concentración de Pb, Cd y Hg en hepatopáncreas y músculo de quelípedo por localidades de muestreo en machos de la especie *Ucides occidentalis*.

		Puerto Hualtaco	Puerto Bolívar	Bajo Alto	Kruskal-Wallis
		$\bar{x} \pm SD$ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	$\bar{x} \pm SD$ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	$\bar{x} \pm SD$ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	
PLOMO	Hepat	1,14 \pm 0,24	0,92 \pm 0,81	1,34 \pm 0,55	KW= 2,12 ; P = 0,35
	Quelip	1,66 \pm 0,78	1,33 \pm 0,40	3,04 \pm 2,93	K= 3,99 ; P = 0,14
CADMIO	Hepat	0,012 \pm 0	0,04 \pm 0,03	0,11 \pm 0,091	K= 12,01 ; P = 0,002
	Quelip	0,013 \pm 0	0,080 \pm 0,05	0,11 \pm 0,14	K= 9,71 ; P = 0,007
MERCURIO	Hepat	2,51 \pm 3,46	0,56 \pm 0,74	2,273 \pm 2,43	K= 3,86 ; P = 0,14
	Quelip	0,85 \pm 1,85	0,89 \pm 1,17	2,59 \pm 2,84	K= 5,17 ; P = 0,08

Fuente: Chuquimarca, 2015.

3.3.2. Niveles de Pb, Cd y Hg en hembras

Los niveles de Pb, Cd y Hg en hepatopáncreas y en el músculo de quelípedo hembra de la especie *Ucides occidentalis* existe una diferencia estadísticamente significativa en su bioacumulación, teniendo en cuenta un valor de Kruskal-Wallis de ($K_{\text{Hep}}= 11,38$; $P_{\text{Hep}} = 0,003$ y $K_{\text{Quel}}= 12,06$; $P_{\text{Quel}} = 0,002$ para Pb); ($K_{\text{Hep}}= 9,59$; $P_{\text{Hep}} = 0,008$ y $K_{\text{Quel}}= 17,36$; $P_{\text{Quel}} = 0,0002$ para Cd) y ($K_{\text{Hep}}= 6,49$; $P_{\text{Hep}} = 0,038$ y $K_{\text{Quel}}= 12,79$; $P_{\text{Quel}} = 0,002$ para Hg), siendo el valor P menores que 0.05 dando un nivel de 95% de confianza. Sin embargo, los niveles de concentraciones promedio de Pb en Puerto Hualtaco fue de 1,14 \pm 0,76 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ en hepatopáncreas y 1,55 \pm 0,48 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ en músculo de quelípedo, siendo mayor que Puerto Bolívar que dio 0,14 \pm 0,14 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ en hepatopáncreas y 0,31 \pm 0,20 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ en músculo de quelípedo y Bajo Alto dando una concentración de 0,69 \pm 0,19 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ en hepatopáncreas y 1,06 \pm 0,83 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ en músculo de quelípedo, en la concentraciones promedio de Cd en las tres localidades nos muestra que para Bajo Alto fue de 0,14 \pm 0,074 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ en hepatopáncreas y 0,22 \pm 0,025 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ en músculo de quelípedo siendo significativamente mayor para Puerto Hualtaco y Puerto Bolívar.

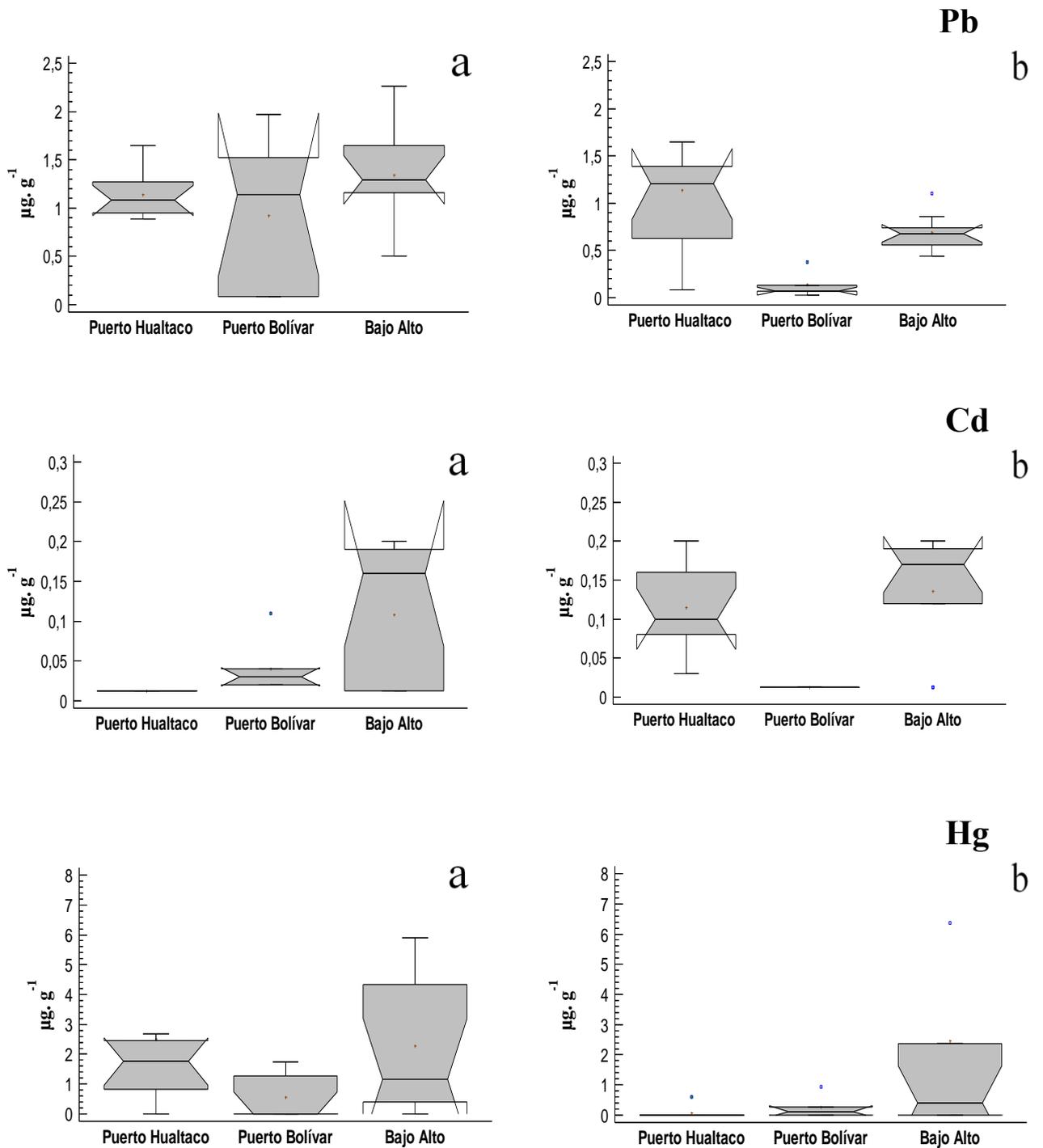
El Hg tiene un nivel de concentración promedio en Bajo Alto de $2,46 \pm 4,22 \mu\text{g. g}^{-1}$ en hepatopáncreas siendo estadísticamente mayor que los niveles de Puerto Hualtaco con $0,06 \pm 0,19 \mu\text{g. g}^{-1}$ y en Puerto Bolívar con $0,26 \pm 0,39 \mu\text{g. g}^{-1}$, sin embargo las concentraciones promedios en el músculo de quelípedo en *Ucides occidentalis* de Puerto Bolívar fue de $5,99 \pm 3,25 \mu\text{g. g}^{-1}$ mostrando estadísticamente una diferencia significativa con las concentraciones de Puerto Hualtaco y Bajo Alto (Tabla 10).

Tabla 10: Resumen estadístico de niveles de concentración de Pb, Cd y Hg en hepatopáncreas y músculo de quelípedo por localidades de muestreo en hembras de la especie *Ucides occidentalis*.

		Puerto Hualtaco	Puerto Bolívar	Bajo Alto	Kruskal-Wallis
		$\bar{x} \pm \text{SD}$ ($\mu\text{g. g}^{-1}$)	$\bar{x} \pm \text{SD}$ ($\mu\text{g. g}^{-1}$)	$\bar{x} \pm \text{SD}$ ($\mu\text{g. g}^{-1}$)	
PLOMO	Hepatop	$1,14 \pm 0,76$	$0,14 \pm 0,14$	$0,69 \pm 0,19$	K= 11,38; P = 0,003
	Quelip	$1,55 \pm 0,48$	$0,31 \pm 0,20$	$1,06 \pm 0,83$	K= 12,06; P = 0,002
CADMIO	Hepatop	$0,12 \pm 0,06$	$0,01 \pm 0$	$0,14 \pm 0,074$	K= 9,59; P = 0,008
	Quelip	$0,13 \pm 0,05$	$0,06 \pm 0,05$	$0,22 \pm 0,025$	K= 17,36; P = 0,0002
MERCURIO	Hepatop	$0,06 \pm 0,19$	$0,26 \pm 0,39$	$2,46 \pm 4,22$	K= 6,49; P = 0,038
	Quelip	$0,15 \pm 0,28$	$5,99 \pm 3,25$	$0,41 \pm 0,83$	K= 12,79; P = 0,002

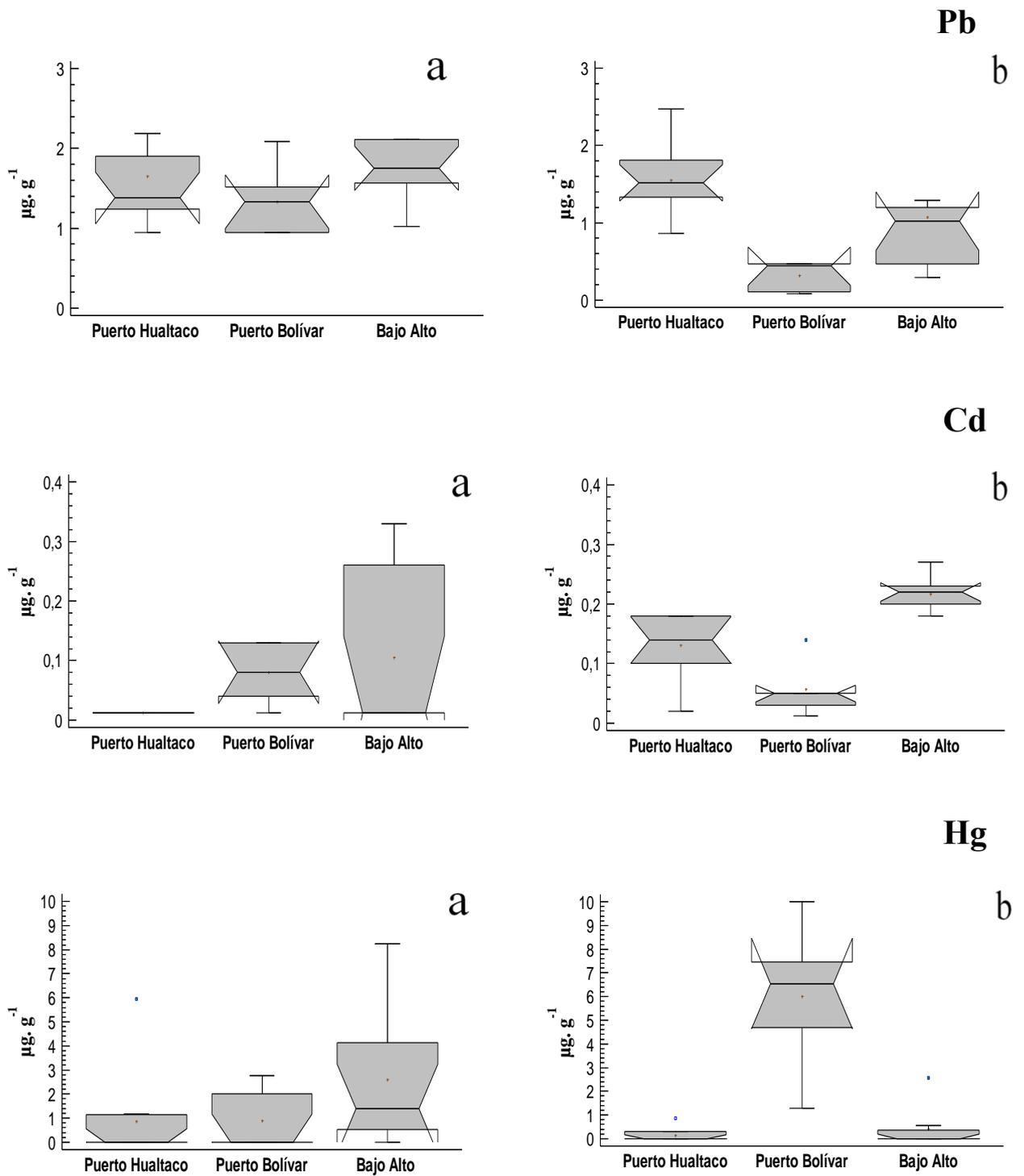
Fuente: Chuquimarca, 2015.

Figura 18: Concentración de Pb, Cd y Hg en hepatopáncreas en tres localidades de muestreo: a) machos; b) hembras.



Fuente: Chuquimarca, 2015.

Figura 19: Concentración de Pb, Cd y Hg en el músculo de quelípedo en tres localidades de muestreo: a) machos; b) hembras.



Fuente: Chuquimarca, 2015.

3.4. CORRELACIÓN DE METALES DEL HEPATOPÁNCREAS Y EL MÚSCULO DE QUELÍPEDO CON RESPECTO AL PESO TOTAL DE LAS HEMBRAS Y MACHOS DE LA ESPECIE *Ucides occidentalis*

3.4.1. Correlaciones de metales en hembras

En el trabajo realizado los niveles de Cd del hepatopáncreas están positivamente relacionados con las concentraciones de Pb del hepatopáncreas que fue $0.0283\mu\text{g. g}^{-1}$ y del músculo de quelípedo que dio $0.0209\mu\text{g. g}^{-1}$, de la misma manera la concentración de Cd del músculo de quelípedo están relacionadas con las concentraciones del mismo metal en el hepatopáncreas dando un valor de $0.0435\mu\text{g. g}^{-1}$, sin embargo la concentración de Hg en el músculo de quelípedo está negativamente relacionada con todos los metales a excepción del mismo metal, podemos decir que el peso total no difiere en ningún caso con las concentraciones de los metales en el organismo del cangrejo (Tabla 11).

Tabla 11 : Correlaciones de Pb, Cd y Hg de hepatopáncreas y el músculo de quelípedo de hembras con respecto al Peso Total.

	Hep-H-Pb	Quel-H-Pb	Hep-H-Cd	Quel-H-Cd	Hep-H-Hg	Quel-H-Hg
Hep-H-Pb						
Quel-H-Pb	0.2143 0.3147					
Hep-H-Cd	0.4475 0.0283	0.4687 0.0209				
Quel-H-Cd	0.1029 0.6324	0.2746 0.1941	0.4154 0.0435			
Hep-H-Hg	-0.0491 0.8198	0.1469 0.4934	0.1964 0.3576	0.2465 0.2455		
Quel-H-Hg	-0.4674 0.0213	-0.4798 0.0177	-0.4892 0.0153	-0.4758 0.0188	-0.0914 0.6710	
PT(gr)	-0.0542 0.8013	0.1551 0.4691	0.2317 0.2760	0.3963 0.0552	0.0133 0.9506	-0.2538 0.2313
n= 24	Quel: Quelípedo; Hep: Hepatopáncreas		H: Hembra			

Fuente: Chuquimarca, 2015.

3.4.2. Correlaciones de metales en machos

Los niveles de Cd del hepatopáncreas están positivamente relacionados con las concentraciones de Pb del mismo tejido que fue $0.0082\mu\text{g. g}^{-1}$, de la igual manera la concentración de Cd del músculo de quelípedo están relacionadas positivamente con las concentraciones de Pb del hepatopáncreas que dio $0.0479\mu\text{g. g}^{-1}$ y las concentraciones de Cd en el hepatopáncreas dando un valor de $0.0004\mu\text{g. g}^{-1}$, sin embargo podemos decir que el peso total no influye para la acumulación de los metales en el organismo del crustáceo de la especie *Ucides occidentalis* (Tabla 12).

Tabla 12: Correlaciones entre metales de hepatopáncreas y el músculo de quelípedo de machos con respecto al Peso Total.

	Hep-M-Pb	Quel-M-Pb	Hep-M-Cd	Quel-M-Cd	Hep-M-Hg	Quel-M-Hg
Hep-Machos-Pb						
Quel-Machos-Pb	-0.0129					
	0.9503					
Hep-Machos-Cd	0.5074	0.2591				
	0.0082	0.2012				
Quel-Machos-Cd	0.3915	-0.1571	0.6415			
	0.0479	0.4434	0.0004			
Hep-Machos-Hg	0.0337	0.1140	-0.1713	-0.1519		
	0.8701	0.5791	0.4028	0.4589		
Quel-Machos-Hg	0.0222	0.2543	0.1635	-0.1905	0.1170	
	0.9143	0.2100	0.4247	0.3511	0.5692	
PT(gr)	-0.1675	-0.0809	-0.1341	-0.0337	-0.2096	0.0181
	0.4133	0.6943	0.5137	0.8700	0.3042	0.9299
n= 24	Quel: Quelípedo; Hep: Hepatopáncreas		M: Machos			

Fuente: Chuquimarca, 2015.

4. DISCUSIÓN

En la presente investigación se trabajó con 50 muestras recolectadas de la especie *Ucides occidentalis* para realizar el análisis de Pb, Cd y Hg en el hepatopáncreas y el músculo de quelípedo, en la determinación de estos metales se demuestra la presencia Pb y Hg en hepatopáncreas y el músculo de quelípedo en los crustáceos procedentes de las tres localidades de la provincia de El Oro los cuales son Puerto Hualtaco, Puerto Bolívar y Bajo Alto.

En los parámetros morfométricos de los crustáceos *Ucides occidentalis*, las hembras en su mayoría tienen diferencias significativas en su longitud total, altura, largo, ancho y peso total con relación a los machos que son más grandes, sin embargo las concentraciones promedio por sexo en las tres localidades nos demuestra que el Pb y Hg en el hepatopáncreas de machos son menores con valores promedio de $1,15 \pm 0,55 \mu\text{g. g}^{-1}$ y $1,90 \pm 2,65 \mu\text{g. g}^{-1}$ respectivamente, a diferencia en el músculo de quelípedo en machos dando una concentración promedio en Pb de $2,05 \pm 1,89 \mu\text{g. g}^{-1}$ y Hg en machos de $1,46 \pm 2,20 \mu\text{g. g}^{-1}$ teniendo en cuenta que no muestra diferencia significativa con las hembras. Esto nos indica que en las tres localidades de muestreo los cangrejos machos por ser más grandes puede que estén bioacumulando más metales en su organismo en comparación con las hembras. (Siavichay, 2013) realizó tres muestreos en tres localidades en donde la bioacumulación de Pb en el tejido de hepatopáncreas se mostró que en el segundo y tercer muestreo la concentración promedio fue mayor.

Los Niveles de Pb y Hg en los organismos también muestra una variación en los especímenes teniendo diferencias significativas en las tres localidades de muestreo, mostrando que en la localidad de Puerto Hualtaco y Bajo Alto la concentración promedio en el hepatopáncreas de machos y hembras nos da un valor de $1,14 \pm 0,76 \mu\text{g. g}^{-1}$ y $2,46 \pm 4,22 \mu\text{g. g}^{-1}$ respectivamente, siendo mayor que Puerto Bolívar, sin embargo en el músculo de quelípedo de machos y hembras en las localidades de Puerto Hualtaco y Puerto Bolívar nos da concentraciones promedio de $1,55 \pm 0,48 \mu\text{g. g}^{-1}$ y $5,99 \pm 3,25 \mu\text{g. g}^{-1}$ respectivamente. Esta variación entre metales indica que existe una mayor bioacumulación en la localidad de Puerto Hualtaco, pero no se descarta que también en Puerto Bolívar bioacumule altos niveles de Hg por los principales factores que

determinan la deposición en las áreas costeras que están influenciadas por la descarga de los sistemas fluviales de la ciudad, las surgencias desde el océano y las depositaciones atmosféricas (Rojas N. L., 2009). Las descargas fluviales dada a la gran actividad minera también podría ser la causa que explica la presencia de Hg en *Ucides occidentalis* en el perfil costero de la provincia de El Oro.

Los niveles de Cd en el hepatopáncreas y el músculo de quelípedo de hembras y machos de *Ucides occidentalis* no muestra diferencia significativas en sus concentraciones entre sexo y localidades, a excepción en la comunidad de Bajo Alto que tuvo una concentración promedio mayor en hepatopáncreas y músculo de quelípedo en comparación al resto dando un valor de $0,14 \pm 0,074 \mu\text{g. g}^{-1}$ y $0,22 \pm 0,025 \mu\text{g. g}^{-1}$ respectivamente. Haciendo comparación a estos valores nos demuestra que no existe diferencia significativas con los valores de concentraciones de la investigación realizada por (Siavichay, 2013).

En la tabla 13 podemos observar que las concentraciones de metales obtenidos en otras investigaciones son menores y en algunos casos mayores. (Kamaruzzaman B. , Akbar, Maryam, Jalal, & Shahbuddin, 2012) determino en el crustáceo de la especie *Scylla serrata* la concentración de Pb con un valor de $2.27 \mu\text{g.g}^{-1}$ en peso seco en Sungai Penor, Pahang y Malasia, (Jewett & Naidu, 2000) determino la concentración promedio de Pb, Cd y Hg en la especie *P. camtschaticus* dándole valores de $0,23 \pm 0,04 \mu\text{g.g}^{-1}$; $0,15 \pm 0,07 \mu\text{g.g}^{-1}$ y $0,105 \pm 0,027 \mu\text{g.g}^{-1}$ respectivamente y se demuestra que no existe diferencias significativas con las concentraciones de este trabajo.

En el caso del Cd la investigación realizada por (Ahumada, 1994) determino que en la especie de crustáceo *Cancer coronatus* la concentración fue de $8.0 \mu\text{g.g}^{-1}$ siendo mayor a los resultados obtenidos en nuestra investigación que en la concentración promedio en hepatopáncreas y el músculo de quelípedo nos dio $0,14 \pm 0,074 \mu\text{g. g}^{-1}$ y $0,22 \pm 0,025 \mu\text{g. g}^{-1}$ respectivamente.

Tabla 13 : Niveles de Plomo, Cadmio y Mercurio en diferentes especies de crustáceos.

Especie	Plomo	Cadmio	Mercurio	Autor
<i>Scylla serrata</i>	2.27 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) peso seco	0.13 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) peso seco		(Kamaruzzaman B. , Akbar, Maryam, Jalal, & Shahbuddin, 2012)
<i>P. camtschaticus</i>	0,23 \pm 0,04 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) peso seco	0,15 \pm 0,07 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) peso seco	0,105 \pm 0,027 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) peso seco	(Jewett & Naidu, 2000)
<i>U. occidentalis</i>	0,323 ppm peso húmedo	0,039 ppm peso húmedo		(Siavichay, 2013)
<i>Cancer coronatus</i>	40,44 mg/kg peso húmedo	9,35 mg/kg peso húmedo		(Feys, 2013)
<i>Cancer coronatus</i>	2.6 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) peso húmedo	8.0 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) peso húmedo	0.4 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) peso húmedo	(Ahumada, 1994)
En el presente trabajo	1,15 \pm 0,55 Hep 1,15 \pm 0,55 Quel Machos ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) peso seco	0,05 \pm 0,07 Hep 0,06 \pm 0,09 Quel Machos ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) peso seco	1,90 \pm 2,65 Hep 1,46 \pm 2,20 Quel Machos ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) peso seco	Chuquimarca, 2015
	0,76 \pm 0,63 Hep 1,11 \pm 0,75 Quel Hembras ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) peso seco	0,10 \pm 0,07Hep 1,11 \pm 0,75Quel Hembras ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) peso seco	1,002 \pm 2,75Hep 1,47 \pm 2,79 Quel Hembras ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) peso seco	

Fuente: Chuquimarca, 2015.

En la tabla 14 se encuentra los límites permisibles de los metales pesados en crustáceos en dos Normas Internacionales las cuales son, la Norma Colombiana, Resolución N° 000122/2012 y UNION EUROPEA, Reglamento N° 333/ 2007 , donde nos indican que la concentración de metales en el análisis realizado en nuestra investigación al crustáceo *Ucides occidentalis*.

Tabla 14: Límites permisibles de metales pesados en los crustáceos.

Metales Pesados	Norma Colombiana Resolución N° 000122/2012 (mg.Kg⁻¹)	UNION EUROPEA Reglamento N° 333/ 2007 (mg.Kg⁻¹)	En el presente Trabajo (mg.Kg⁻¹)	
Pb	0.50	0.50	0,96 Hep	1,59 Quel
Cd	0.50	0.50	0,08 Hep	0,10 Quel
Hg	0.50	0.50	1,47 Hep	1,47 Quel

Fuente: Chuquimarca, 2015.

En las concentraciones de metales en los crustáceos de la especie *Ucides occidentalis* se determinaron niveles altos tanto para Pb y Hg. Los compuestos orgánicos de Pb son generalmente de origen antropogénico y se encuentran frecuentemente en el medio acuático como contaminantes. Sin embargo, algunos complejos orgánicos se forman naturalmente, y sus velocidades de formación pueden ser afectadas por plomo contenido en artefactos creados por el hombre (Contreras & A, 2007) y así afectar a al organismo en las localidades de estudio se debe a las descargas provenientes a la minería, ya que anteriormente la mayor parte de la explotación minera se la realizaba de manera artesanal, utilizando al mercurio para amalgamación del oro. Los desechos de las aguas servidas de las ciudades afectan también a la vida marina ya que puede contaminar con mucha más veracidad a los ríos y esteros que van directamente a descargar al mar provocando así que se contamine las especies marinas. Lo más resaltante de los análisis multivariados es la relación negativa que guarda los niveles de Hg en quelípedo de hembras y los niveles de Cd y Pb en musculo y hepatopáncreas. Esta relación negativa puede sugerir que el mercurio pudiera estar modulando la incorporación de los otros metales pudiendo e mercurio desplazar sitios activos donde los otros dos metales tóxicos pudieran interactuar y de esta manera determinar un mecanismo de depuración del Cd y Pb. Sin embargo estas relaciones deben ser estudiadas a profundidad pues fue un comportamiento observado solo en hembras. Por otro lado no existe relación entre el peso total de los organismos con la incorporación de los metales, como suele ocurrir con organismos de poco movimiento que actúan como biomonitores del medio ambiente (Lemus, Castañeda, & Chung, 2014).

5. CONCLUSIONES

- Mediante el estudio se logró determinar que los análisis de Pb, Cd y Hg en el crustáceo *Ucides occidentalis* fueron detectados a través de Absorción Atómica.
- En las tres localidades de estudio se evidencia que los niveles de Pb y Hg en los crustáceos son más altas en los machos.
- La mayor concentración de Hg se encontró en los ejemplares de *U. occidentalis* colectados en la localidad de Bajo Alto y Puerto Hualtaco lo que determina una mayor biodisponibilidad para su incorporación en los organismos y los más bajos en Puerto Bolívar.
- Los niveles de Pb y Hg en tejido de musculo y hepatopáncreas en el cangrejo *U. occidentalis* representan un riesgo para la salud dado que los niveles presentados superan los límites permisible de la Comunidad Europea y la norma Colombiana.

6. RECOMENDACIONES

- Realizar Investigaciones de las concentraciones de metales pesados en diversas especies de organismos que sean bioacumuladores, permitiendo conocer de una mejor manera el grado de contaminación existente en las localidades que se presuman que estén afectadas por las distintas fuentes contaminantes.
- Dar a conocer a las comunidades en donde su actividad económica sea la captura de especies marinas para la venta y consumo en la región, de igual manera a las autoridades competentes los peligros que acarrea en la ingesta como alimento a largo plazo, principalmente en las localidades que se escogió para este estudio que han resultado con un alto nivel de concentración de Pb y Hg.
- Efectuar estrictos controles de las descargas domésticas e industriales, antes de que sean vertidas en algún cuerpo de agua.
- Plantear un programa continuo de un estudio de Biomonitorio y remediación, a lo largo del perfil costanero de la provincia de El Oro para permitir recuperar el equilibrio de los ecosistemas acuáticos.
- Incorporar a las Normas o estatutos Ambientales Nacionales Ecuatorianos los límites permisibles para el consumo humano de metales pesados en alimentos de especies marinas.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Constitucion politica de la republica del ecuador. (2008). Obtenido de http://www.asambleanacional.gov.ec/documentos/constitucion_de_bolsillo.pdf.
- Ley de Minería del Ecuador. (2013). Obtenido de http://www.eluniverso.com/sites/default/files/archivos/2013/06/13textofinalley_minera_0.pdf
- Abarca, E. (2014). DETERMINACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA CL50, CON PLOMO EN JUVENILES DE CAMARÓN *Litopenaeus vannamei* Y ALEVINES DE TILAPIA ROJA *Oreochromis sp.* *Trabajo de titulacion*, 62 Pp.
- Ahumada, R. (1994). Niveles de concentraciones e Índice de Bioacumulacion para Metales Pesados (Cd, Cr, Ni, Cu, Pb, y Zn) en tejidos de invertebrados benticos de Bahia San Vicente, Chile. *Biologia Marina, Valparaíso* , 29(1), 77-87.
- Arboleda, G. B. (2011). Analisis instrumental. Popayan: Universidad Del Cauca.
- Barán, J. (1995). Química Bioinorgánica. Madrid.
- Botello, V., Rendón Von Osten, J., G, G.-B., & Agraz-Hernández, C. (2005). Golfo de México: contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias (2da Edición. ed.).
- Boyd, A., Seger, D., Vannucci, S., Langley, M., Abraham, J., & King, L. J. (1994). Mercury exposure and cutaneous disease. *43(1)*, 43(1): 81-90.
- Brewer, M., Casaret, & Doulls. (1994). *Mercury in Fish, Safety of Fish, advice for consumer: The basic science of poison*. Third edition, edited by Curtis, D. Klassen.
- Butler, P., Andrén, L., Bonden, G., Jernelov, A., J, R. D., & Rome. (1971). MoFood and Agricultural Organization technical conference on marine pollution and its effects on living resources and fishing. M. Ruivo.

- Capelo, E. G. (Quito de 2013). **VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA PARA LA DETERMINACIÓN DE Ba, Co, y V EN SUELOS.** Quito.
- Capó, M. (2002). *Principios de Ecotoxicología, Diagnostico Tratamiento y Gestión del Medio Ambiente. Tipos de Contaminantes.*
- Cavalleri, A., & Gobba, F. (1998). Reversible color vision loss in occupationally exposed to metallic mercury. *77(2):173-177.*
- Chang, R. (2002). *Química* (Septima ed.). Mexico: McGRAW-HILL.
- CLAIR, N. S. (2001). *Química para Ingeniería* (Cuarta Edición ed.). Bogotá.: McCraw-Hill Interamericana.
- Codina, J. C. (1983). *Toxicología Ambiental.* Omega.
- Contreras, O., & A. (2007). Determinacion de trazas de Cd en Cholga (*Aulacomya ater*), chorito (*mytilus chilensis*) y ostras (*ostrea chilensis*) en la zona de chiloé (hueihue). Valdivia - Chile .
- Cordero, V. (2011). *Especial peces de Costa Rica* (Vol. 18). Costa Rica: Acuarofilia total.
- Counter, S., Buchanan, L., Ortega, F., & Laurell, G. (2002). Elevated blood mercury and neurological observations in children of the ecuadorian gold mines *J. Toxicol Environ Health A. , 65(2):149-163.*
- Díaz, O., F, E., L, C., J, B., J, C., A, F., y otros. (2001). influencia estacionales, espaciales, biologicas y ambientales en la bioacumulacion del mercurio total y metilmercurio en *tagelus dombeii*. *biol.mar.oceanogr*, 36(1):15-29.
- Duffus. (2002). "Heavy metal"-meaningless term. *Pure Appl.Chem*, 74(5), 793-807.
- Ellingsen, D., Bast-Pettersen, R., Efskind, J., & Thomassen. (2001). Neuropsychological effects of low mercury vapor exposure in chloralkali workers. *neurotoxicology*, 22(2), 249-258.
- Esteves, J., Gil, M., & Harvey, M. (1996). Evaluación de la contaminación por metales en sedimentos y materiales en suspensión de la cuenca turbio-gallegos. argentina.

- Feys, E. (2013). 2013. Niveles de cadmio y plomo en el exoesqueleto del cangrejo rojo (*Ucides occidentalis*) del Golfo de Guayaquil (Las Loras – Puerto el Morro – Chupadores) y Machala (Puerto Bolívar). . Guayaquil: Tesis para obtener el título de Ingeniera Ambiental. Facultad de Ciencias Naturales-Escuela de Ciencias Geológicas y Ambientales. Universidad de Guayaquil.
- Fisher, W., Krupp, F., SchneideR, W., Sommer, C., Carpenter, K., & Niem, V. (1995). Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Plantas e Invertebrados. Pacifico Centro-Oriental.: Roma. FAO.
- Floría, P. (2007). Gestión de la Higiene Industrial en la Empresa (7ma ed.). Madrid: Fundacion Confemetal.
- Gaad, G., & Griffiths, A. (1987). Microorganisms and heavy metals toxicity. *Microb. Ecol.* (Vol. 4).
- Gena. (2004). Subsecretaria de Recursos Pesqueros. Ecuador.
- Harold, W. y. (2005). Analisis Quimico e Instrumental Moderno. España: Reverte.
- Haug, A., Melson, & Omang, S. (1974). Estimation of heavy metal pollution in two norwegian fjord areas by analysis of the brown alga *ascophyllum nodosum*. (Vol. 7). Environmental pollution.
- INP. (29 de julio de 2015). <http://www.institutopesca.gob.ec/programas-y-servicios/cangrejo/>.
- Jennings, J., & Rainbow, P. (1979). Studies on the uptake of cadmium by the crab *Carcinus maenas* in the laboratory: I Accumulation from seawater and a food source. *Marine Biology*, 50(2), 131–139 pp.
- Jerome, R., & Epstein, L. (1991). *Quimica General* (7ma ed.). McGraw-Hill Interamericana Editores, S.A.
- Jewett, S., & Naidu, S. (2000). Assessment of Heavy Metals in red King Crabs Following Offshore Placer. *Marine Pollution Bolletin*, 40(6), 478-49.
- Kamaruzzaman, B., Akbar, J., Maryam, B., Jalal, K., & Shahbuddin, S. (2012). Bioaccumulation of Heavy Metals (Cd; Pb; Cu and Zn)in *Scylla serrata*

- (Forsskal 1775) Collected from Sungai Penor, Pahang, Malaysia. *Pertanika J. Trp. Agric. Sci*, 34(1), 183-190.
- KIRK, R., SAWYER, R., & HEGAN. (1999).** Composición y análisis de alimentos de Pearson. *Editorial Continental, México DF* , pág. 153-157.
- Lemus, M., Castañeda, J., & Chung, K. (2014). Metales Pesados en peces e invertebrados del golfo de paria, Venezuela. *Int. Contam. Ambient*, 30(2), 137-142.
- Lippmann, M. (1992). Environmental toxicants. *Human Exposures and their Health. Effects*. New York: Van no Strand Reinhold.
- Louma, S., & Rainbow, P. (2008). Metal contamination in aquatic environments. Cambridge: University Press.
- LUQUE, E. M. (2005). DISTRIBUCIÓN DE METALES PESADOS. *Departamento de Biología Vegetal y Ecología*.
- Marquez, M. D. (2009). MANUAL DE PRÁCTICAS DEL ESPECTROFOTÓMETRO DE ABSORCIÓN ATÓMICA GBC 932 AA. Vera Cruz: UNIVERSIDAD VERACRUZANA.
- Mero, M. (2010). “DETERMINACIÓN DE METALES PESADOS (Cd y Pb) EN MOLUSCOS BIVALVOS DE INTERÉS COMERCIAL DE CUATRO ESTEROS DEL GOLFO DE GUAYAQUIL”. Guayaquil: Universidad de Guayaquil. TESIS DE GRADO PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MAGISTER EN CIENCIAS CON ENFASIS EN MANEJO SUSTENTABLE DE RECURSOS BIOACUÁTICOS Y MEDIO AMBIENTE.
- Morand, E., Giménez, M., Benitez, M., & Garro, O. (2002). Determinación de arsénico en agua por espectrometría de absorción atómica con generación de hidruro (HG-AAS). *Microbiología de los Alimentos*, 4 Pp.
- Odum.E. (1986). fundamentos de la ecologia. Mexico: CECSA.Mexico.
- OMS. (1999). Evaluación de ciertos aditivos alimentarios y contaminantes de los alimentos. 49° Informe del Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios.

- Organizacion Mundial de la Salud. (2013). Guía breve de métodos analíticos para determinar el contenido de plomo de la pintura. IOMC, 16 Pp.**
- Orozco, C., Gonzales, N., Rodriguez, F., & Alfayate, J. (2003). CONTAMINACION AMBIENTAL UNA VISION DESDE LA QUIMICA. (C. R. ORTEGA, Ed.) MADRID, ESPAÑA: S.A. EDICIONES PARANINFO.**
- Ozuah, P. (2001). folk use of elemental mercury: a potential hazard for children J.n. 93(9), 320-322.**
- Paez, F., & Botello, A. (1986). el problema crucial: la contaminacion en medio ambiente en coatzacoalcos. mexico.**
- Pezo, D. P. (1992). DETERMINACION DE METALES PESADOS BIOACUMULABLES EN ESPECIES ICTICAS DE CONSUMO HUMANO EN LA AMAZONIA PERUANA. FOLIA AMAZONICA, 4(2), 171 Pp.**
- Phillips, D. J., & Rainbow, P. S. (1980). Quantitative aquatic biological indicators. Applied Science Publishers. London.**
- Phillips, D., & Rainbow, P. (1994). *Biomonitoring of trace aquatic contaminants*. Florida: Chapman and Hall.**
- Poma, C. (1996). Estado actual de la pesquería del cangrejo de los manglares *Ucides occidentalis* (ORTAMNN, 1897) en la Subregión Tumbes. Perú.: Universidad Nacional Tumbes, Trabajo de Habilitación Docente.**
- Rainbow, P. (1995). Biomonitoring of heavy metal availability in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 31(4-12), 183- 192.**
- Realpe, S. (2009). "Estudio de la contaminación de el agua por productos fabricados a base de PVC usando espectroscopia de absorción atómica y quimiometría". Riobamba Ecuador: Tesis de Grado Previo a la Obtención del Título en Biotecnología Ambiental. Escuela Superior Politécnica Del Chimborazo.**
- Repetto, M. y. (2009). *Toxicología Fundamental* (Cuarta ed.). Diaz Santos.**

- Rojas, N., Lemus, M., Rojas, L., Martínez, G., Ramos, & Chung, K. (2009). Contenido de mercurio en *Perna viridis* en la costa norte del Estado Sucre, Venezuela. *Ciencias Marinas*, 35(1).
- Rosas, H. (2001). Estudio de la Contaminación por Metales Pesados en la Cuenca del Llobregat. España: Tesis Doctoral. Instituto de Ingeniería minera y Recursos Naturales. Universidad Politécnica de Catalunya.
- Salamanca, P., ML, P., & N, O. A. (2005). algas como indicadores de la contaminación.
- Siavichay, L. (2013). determinación de cadmio y plomo en el tejido blando, hepatopancreas del cangrejo rojo (*ucides occidentalis*) y sedimento de la reserva ecológica manglares churute. guayaquil.
- Soegianto, A., Charmantier-Daures, M., Trilles, J., & Charmantier, G. (1999). Impact of cadmium on the structure of gills and epipodites of the shrimp *Penaeus japonicus*. . *Aquatic Living Resources*, 12(1), 57–70 pp.
- Solano, F. (2005). Aspectos pesqueros, biológicos y socioeconómicos de la captura de cangrejo rojo en los manglares del Ecuador. Ecuador: INP.
- Solano, F. (2005). Seguimiento al proceso de comercialización del Cangrejo rojo (*Ucides occidentalis*): Documento Interno INP.
- Solano, F. (2006). Aspectos pesqueros, biológicos y socioeconómicos de la captura de cangrejo rojo en los manglares del Ecuador. *INP*, 32 pp.
- Spiro, T., & Stigliani. (2004). Química Medioambiental (Segunda ed.). (Y. M. Albarrán, Trad.) Pearson Educación.
- Springer, M. (2010). Biomonitorio Acuático. *Revista de Biología Tropical*,(4), 53-59.
- Tarras, Wahlberg, N., A, F., G, F., S, L., B, L., y otros. (2000). Environmental impact of small-scale and artisanal gold mining in southern Ecuador. Implication for the setting of environmental standards and for the management of small-scale operations. *ambio*, 29(8):484-491.

- Tazán, G., & Wolf, B. (2000). El Cangrejo Rojo *Ucides occidentalis* (ORTMAN) En la Reserva Ecológica Manglares Churute. Estudio Bioecológico I y II. Comisión Técnica para el Desarrollo de la Cuenca del Río Guayas, Reserva Ecológica Manglares Churute, Fundación Natura. Guayaquil.**
- Temmerman, L., Bell, J., Garrec, J., Klumpp, A., Krause, G., Tonneijck, A. K., y otros. (2004). Biomonitoring of air pollution with plants-considerations for the future, Urban Air Pollution, Bioindication and Environmental Awareness. *Cuvillier Verlag, Göttingen.***
- Tirado, V. G. (2000). Pneuropsychological disorders after occupational exposure to mercury vapors in el Bagre. *neurol, 31(8), 712-716.***
- Twilley, R., Pozo, M., Garcia, V. R.-M., Zambrano, & Boderó, A. (1997). Litter dynamics in riverine mangrove forests in the Guayas River estuary, Ecuador. (Vol. 111). Ecuador: *Oecologia.***
- University, O. (2004). Atomic spectroscopy in analytical chemistry.**
- Zhou, Q., Grange, F., Straub, P., Haegy, J., & Guillaume, J. (1997). Mercury erythema after accidental exposure to mercury vapor. *Med. Interne, 148(4), 317-320 Pp.***
- Zimmer, J., Grange, F., Straub, P., Haegy, J., & Guillaume, J. (1997). Mercury erythema after accidental exposure to mercury vapor. *Ann Med Interne, 606, 135-150.***

ANEXOS

Anexo 1: Disección de las muestras.



Anexo 2: Secado y digestión de las muestras disecadas.



Anexo 3: Baño maría y filtrado de las muestras digeridas.



Anexo 4: Lecturas de las muestras en el espectrofotómetro de absorción atómica.



FIRMA DE RESPONSABILIDAD

Luis Chuquimarca Montesdeoca.

AUTOR.

**Dra. Mairin Josefina Lemus Barrios,
PhD.**

TUTORA