

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL**  
**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICAS**

**INFORME DE MATERIA INTEGRADORA**

“Evaluación de la toxicidad de sedimentos estuarinos  
haciendo uso de índices de geoacumulación, extracción  
secuencial selectiva (ESS) y bioensayo con *Artemia*  
*salina*”

Previo la obtención del Título de:

**INGENIERO QUÍMICO**

Autor

**LAURA ISABEL CORRALES MORENO**

GUAYAQUIL - ECUADOR

AÑO 2017

## RESUMEN

En los sedimentos, los metales pesados presentan diferentes características y comportamientos en términos de interacción química, movilidad, disponibilidad y toxicidad potencial. Debido a que no se reportan estudios referentes a la toxicidad en sedimentos estuarinos en Ecuador, este trabajo realizó un estudio integral de la toxicidad de sedimentos en sitios de Estero Salado y Manglares Churute con base a la determinación de sus propiedades físico-químicas y los contaminantes presentes. Se hizo uso de cistos descapsulados de *Artemia salina* como indicadores de toxicidad. Se determinaron las concentraciones de metales pesados totales en el sedimento, y se estudiaron los factores que podrían influir en su biodisponibilidad y toxicidad en el medio. Se recurre al cálculo de índices de geoacumulación y enriquecimiento, así como a la extracción secuencial selectiva de las fracciones de metales potencialmente biodisponibles. Finalmente se identificaron los metales pesados que podrían representar una mayor amenaza a los esfuerzos de recuperación y conservación de los sitios en estudio. Evidenciándose que el porcentaje de eclosión de cistos de *Artemia salina* descapsulada refleja los niveles de toxicidad observados en los sedimentos estuarinos del área de estudio siendo los sitios más tóxicos ES1 Y ES3.

**Palabras claves:** Metales pesados, toxicidad, estuarios, extracción selectiva.

## ABSTRACT

In sediments, heavy metals have different characteristics and behaviors in terms of chemical interaction, mobility, availability and potential toxicity. Due to the lack of reports of toxicity in estuarine sediments in Ecuador, this work carried out an integral study of the sediment toxicity at Estero Salado and Churute mangrove sites based on the determination of their physicochemical properties and pollutants gifts. Decapsulated cysts of *Artemia salina* were used as indicators of toxicity. The concentrations of total heavy metals in the sediment were determined and the factors that could influence its bioavailability and toxicity in the medium were studied. The calculation of geoaccumulation and enrichment indexes, as well as the selective sequential extraction of potentially bioavailable metal fractions is used. Finally, heavy metals were identified that could represent a greater threat to the recovery and conservation efforts of the sites under study. It is evidenced that the percentage of hatching of cysts of decapsulated *Artemia salina* reflects the levels of toxicity observed in the estuarine sediments of the study area being the most toxic sites ES1 and ES3.

**Keywords:** Heavy metals, toxicity, estuaries, selective extraction.

## **DEDICATORIA**

A Dios por darme la fuerza que ese necesita para no caer.

A mi familia, en especial mi madre Aura Ligia por ser mi pilar y fuerza impulsora para seguir adelante.

**Laura Isabel Corrales Moreno**

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por darme el gran regalo llamado vida.

A mi tutor PhD. Luis Domínguez Granda, que supo compartir sus conocimientos y motivarme desde el inicio de proyecto con su experiencia, recomendaciones y accesibilidad para realizar los análisis. A las personas que conforman el Laboratorio de Aguas, Ing. Andrea Rosado e Ing. Rebeca Parra por su ayuda con el análisis de las muestras de agua y sus sugerencias para los análisis. Al Ing. Antonio Morocho y las biólogas Ma. José S. y Ma. Del Mar M., por su ayuda en las salidas de campo.

A la Dra. Olga González Sánchez, que mostró su apoyo desde el inicio del proyecto con su extensa experiencia, también a los miembros del Laboratorio de Espectrometría (LESPEC); Ing. Laila Santana, la Ing. Inés Aguirre, por su ayuda y comprensión para realizar los análisis.

A mis compañeros que formaron parte de mi vida universitaria y fueron apoyo en momentos difíciles. En especial a Solange Rivera, Enriqueta García, Christian Moreno y Christian Salazar, por motivarme y ayudarme a seguir.

A mi madre por apoyarme en todo momento, a Pedro Paredes por creer en mí.

Sin el apoyo de todas las personas mencionadas este proyecto no se hubiese podido llevar a cabo.

**Laura Isabel Corrales Moreno**

## **DECLARACIÓN EXPRESA**

“La responsabilidad del contenido desarrollado en la presente propuesta de la materia integradora corresponde exclusivamente al equipo conformado por:

LAURA ISABEL CORRALES MORENO

Y el patrimonio intelectual del mismo a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL”.

---

Laura Isabel Corrales Moreno

## ACRÓNIMOS Y SIGLAS

<b>ASTM</b>	American Society of Testing Materials
<b>TULSMA</b>	Texto Unificado de la Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente
<b>UV</b>	Ultravioleta
<b>ISO</b>	International Organization for Standardization
<b>ICP-MS</b>	Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry
<b>INEN</b>	Instituto Ecuatoriano de Normalización
<b>CCME</b>	Canadian Council of Ministers of the Environment
<b>pH</b>	Potencial de Hidrógeno
<b>HCl</b>	Ácido clorhídrico
<b>CH<sub>3</sub>-COOH</b>	Ácido acético
<b>ESS</b>	Extracción secuencial selectiva
<b>Fe</b>	Hierro
<b>Cu</b>	Cobre
<b>Pb</b>	Plomo
<b>Zn</b>	Zinc
<b>Ni</b>	Níquel
<b>As</b>	Arsénico
<b>Cr</b>	Cromo
<b>Cd</b>	Cadmio
<b>Hg</b>	Mercurio
<b>Fe</b>	Hierro
<b>NaOAc</b>	Acetato de sodio
<b>HNO<sub>3</sub></b>	Ácido nítrico

## TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	I
ABSTRACT .....	II
ACRÓNIMOS Y SIGLAS.....	VI
TABLA DE CONTENIDO .....	VII
INTRODUCCIÓN .....	XII
CAPÍTULO 1 .....	1
1. Marco teórico .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
1.1. Movilización de metales pesados .....	2
1.3. Características <i>Artemia salina</i> .....	5
CAPÍTULO 2 .....	10
2. Metodología .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
2.1. Puntos de muestreo.....	11
2.2. Recogida, transporte y conservación de muestras .....	12
2.3. Parámetros realizados in-sito del Estero Salado y Manglares de Churute	13
2.4. Secado.....	14
2.5. Granulometría.....	14
2.6. Caracterización Físico química del sedimento.....	15
2.6.1. Materia Orgánica.....	15
2.6.2. Extracción metales totales .....	16
2.6.3. E xtracción secuencial selectiva.....	17
2.7. Caracterización toxicológica del sedimento .....	20
2.7.1. Preparacion del agua .....	20
2.7.2. Preparacion de cistos.....	21
2.7.3. Corrida del bioensayo .....	23
2.8. Espectrofotómetro de absorción atómica.....	24
2.9. Índice de geo-acumulación .....	24
2.10. Factor de enriquecimiento normalizado .....	25



2.11. Tratamiento de los resultados.....	27
CAPÍTULO 3 .....	28
3. Resultados.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
3.1. Parámetros de agua campo.....	29
3.2. Resultados de nutrientes del agua de campo.....	29
3.3. Granulometría.....	30
3.4. Porcentaje materia orgánica del sedimento.....	31
3.5. Concentración de metales .....	31
3.6. Índice de geo-acumulación de Müller .....	32
3.7. Factor de enriquecimiento normalizado .....	33
3.8. Extracción secuencial selectiva .....	33
3.9. Bioensayo con <i>Artemia Salina</i> .....	34
3.10. Resultados generales .....	36
CAPÍTULO 4 .....	41
4. Discusión .....	42
4.1. Caracterización del agua .....	42
4.2. Caracterización del sedimento.....	44
4.3. Metales en el sedimento .....	45
4.4. Ensayos de toxicidad.....	47
1.1. Conclusiones y recomendaciones .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
1.1.1. Conclusiones.....	50
1.1.2. Recomendaciones.....	51
BIBLIOGRAFÍA.....	52
GLOSARIO DE TERMINOS.....	55
SIMBOLOGÍA.....	57
ANEXOS .....	58

## LISTADO DE FIGURAS

Figura 2.1-1. Ubicación de los sitios de toma de muestras, ubicados en el área urbana del Estero Salado y la Reserva Ecológica Manglares Churute	11
Figura 2.2-1. Etiquetado de nuestras	13
Figura 2.2-2. Delimitación zona	13
Figura 2.3-1. Toma multi-parámetro	14
Figura 2.4-1. Secado muestras	14
Figura 2.5-1. Tamizador	15
Figura 2.6.1-1. Muestras en mufla	16
Figura 2.6.3-1. Multi mixer	17
Figura 2.6.3-2. Fase 3 en el equipo HACH	18
Figura 2.6.3-3. Planchas de calentamiento	18
Figura 2.6.3-4. Centrífuga	19
Figura 2.6.3-5. Equipo Water Pro	20
Figura 2.6.3-6. Fisher Scientific	20
Figura 2.7.1-1. Decantación	21
Figura 2.7.2-1. Descapsulación	22
Figura 2.7.2-2. Tamiz N°400	22
Figura 2.7.2-3. Cistos hidratados y descapsulados	22
Figura 2.7.3-1. Bioensayo	23
Figura 2.8-1. Espectrofotómetro de absorción atómica Thermo Scientific.	24
Figura 3.2-1. Concentraciones nutrientes.	30
Figura 3.3-1. Gráfico granulometría.	30
Figura 3.4-1. Materia orgánica (%) en los diferentes sitios.	31
Figura 3.6-1. Gráfico Índice de geo-acumulación.	32
Figura 3.7-1. Gráfico Índice factor de enriquecimiento.	33
Figura 3.8-1. Concentración de Cadmio extraído (%) en las fases de la Extracción secuencial selectiva.	34
Figura 3.8-2. Concentración de Plomo extraído (%) en las fases de la Extracción secuencial selectiva.	34
Figura 3.9-1. Porcentaje de eclosión vs tiempo de incubación.	35
Figura 3.9-2. Porcentaje de eclosión 24 h.	36

Figura 3.9-3. Porcentaje de eclosión 12 h. _____	36
Figura 3.10-1. Análisis de componentes principales referente a zonas de muestreo. _____	37
Figura 3.10-2. Análisis de componentes principales referente a Metales _____	37
Figura 3.10-3. Concentración de Plomo expresada en ppm, agrupada en alta y baja toxicidad _____	38
Figura 3.10-4. Concentración de Mercurio expresada en ppb, agrupada en alta y baja toxicidad _____	38
Figura 3.10-5. Concentración de Zinc expresada en ppm, agrupada en alta y baja toxicidad _____	39
Figura 3.10-6.. Concentración de Cadmio expresada en ppm, agrupada en alta y baja toxicidad _____	39
Figura 3.10-7. Concentración de Cadmio extraída expresada en ppm, agrupada en alta y baja toxicidad _____	40

## LISTADO DE TABLAS

Tabla 1.2-1. Concentraciones de sedimentos estuarinos en el mundo _____	4
Tabla 1.4-1. Concentraciones evaluadas en toxicidad durante eclosión _____	7
Tabla 1.4-2. Concentraciones evaluadas en toxicidad durante la fase de nauplio _____	7
Tabla 2.1-1. Coordenadas de los sitios de muestreo _____	12
Tabla 2.7.1-1. Parámetros del agua para bioensayo _____	21
Tabla 2.7.3-1. Registro bioensayo Artemia salina eclosionadas en horas _____	23
Tabla 2.9-1. Valores Índice de geoacumulación _____	25
Tabla 2.10-1. Valores factor de enriquecimiento _____	26
Tabla 3.1-1. Parámetros agua de campo _____	29
Tabla 3.4-1. Porcentaje Materia Orgánica por zonas _____	31
Tabla 3.5-1. Concentración de metales expresados en ppm _____	32
Tabla 3.9-1. Concentración de Cadmio y Plomo en extracto de sedimentos para bioensayo. _____	35

## INTRODUCCIÓN

La actividad humana conlleva al uso de muchos compuestos que deterioran el ambiente, entre ellos los metales pesados. Aunque son elementos que existen naturalmente en el ambiente, sus concentraciones en el medio se han incrementado de manera importante durante los últimos años, en especial como resultado de actividades mineras y el desarrollo de componentes electrónicos. Estos metales están presentes en las baterías de celulares, aerosoles, pinturas látex, tintas, entre otros. Una inadecuada gestión de los desechos que contienen estos metales puede favorecer su llegada a ríos y arroyos, acumulándose en zonas de sedimentación como en los estuarios, tal es el caso del Golfo de Guayaquil. Estos metales, que generalmente se encuentran adheridos al sustrato, pueden liberarse y estar biodisponibles para los organismos que habitan estos sistemas, con el consiguiente riesgo ambiental.

En los sistemas acuáticos, los componentes químicos son transportados por partículas hasta llegar a los sedimentos, actuando éstos como fuente de contaminación teniendo la capacidad de retener y liberar los contaminantes a la columna de agua a través de mecanismos de absorción y desorción. Los sedimentos y el tamaño de sus partículas contribuyen a la contaminación química, debido a que la parte constituida por limo y arcilla es transmisora de productos químicos adsorbidos por los sedimentos, en especial plaguicidas clorados y la mayor parte de metales, siendo transportados desde los sedimentos al sistema acuático (Rodríguez, 2011). Estos contaminantes llegan a los sedimentos a través de actividades industriales y agrícolas que no poseen un control estricto en el desecho de sus residuos. Estas actividades son comunes a lo largo del Golfo de Guayaquil generando una gran preocupación en la zona. Cuando se habla de contaminantes relacionados a las actividades mencionadas los más comunes son los metales pesados y pesticidas (Yucra, Gasco, Rubio, & Gonzales, 2008). Los metales pesados además de ser perjudiciales para la salud humana pueden bioacumularse en los organismos. Dentro de los efectos nocivos que estos metales han mostrado en organismos se encuentran mutagénesis, déficit neurológico

además de perturbar los procesos de reproducción (Londoño, Londoño, & Muñoz, 2016).

Los compuestos químicos asociados a los sedimentos ingresan en la cadena alimenticia de muchas formas. En los organismos acuáticos, los metales pesados son asimilados por los siguientes órganos: branquias, revestimiento cutáneo y tracto digestivo; por otra parte, la eliminación se da a través de las vías urinarias, vía fecal y glándulas de excreción. Normalmente los sedimentos finos son el suministro alimentario de organismos que habitan en el fondo y son alimento de organismos superiores. Cabe recalcar que los compuestos tóxicos se acumulan biológicamente en organismos como el pescado y otros depredadores superiores, siendo estos contaminantes transportados desde la tierra y por medio de procesos como erosión a organismos superiores, incluido el hombre. Por esto es importante el monitoreo continuo del hábitat que es fuente de alimento para los habitantes del Golfo de Guayaquil y evitar un daño a largo plazo.

A fin de determinar los niveles de contaminación en sedimentos frecuentemente se recurre a su caracterización química, sin embargo, en muchas ocasiones restricciones en equipamiento o financieras limitan su aplicación rutinaria en programas de monitoreo. En estos casos, se puede recurrir al uso de ensayos de toxicidad que resultan de menor costo, permitiendo su implementación rutinaria y el incremento de muestras a ser evaluadas. Existen varios organismos que pueden ser utilizados para este fin (ej. *Daphnia*, bacterias, otros), sin embargo, muchos de ellos son de difícil manejo en condiciones de laboratorio (ej. mantenimiento del stock, control de plagas, otros). La *Artemia salina*, un pequeño crustáceo empleado rutinariamente como alimento vivo en acuicultura, es un organismo de fácil manejo y ha sido utilizado en ensayos de toxicidad de sedimentos con éxito (Sorgeloos et al., 1987). De acuerdo a unos estudios de toxicidad donde se emplearon *Artemia salina* en diferentes estadios de desarrollo se reportaron un total de 24 publicaciones en el test de eclosión de cistos, 85 en el test de toxicidad aguda y 18 publicaciones en el test de toxicidad crónica, ésta última demuestra el ciclo de vida de la *Artemia salina* (Libralatoa, et al., 2016) Esto evidencia el potencial uso de este organismo en ensayos de toxicidad.

El uso de la *Artemia salina* se ha extendido a las investigaciones en toxicología aplicada dada la disponibilidad comercial de quistes secos, útiles como material vivo de prueba (Meyer et al., 1982). La investigación en *Artemia* tiene un amplio espectro que va desde la evaluación de compuestos tóxicos o esenciales hasta la exposición tóxica aguda a diversos productos químicos (Abdullah et al., 1997), la detección de tóxicos en productos comestibles y farmacéuticos, estudios de modelos de acción tóxica de sustancias y de transferencia tóxica de contaminantes (Sorgeloos et al., 1987).

Actualmente existe limitada información en relación a los niveles de contaminantes presentes en los sedimentos de nuestro Golfo, el cual posee importancia social y económica (ej. acuicultura, pesca industrial y artesanal, entre otros). Resulta necesario el contar con técnicas de monitoreo y evaluación de la calidad de los sedimentos del Golfo a fin de conservar los servicios ecosistémicos que éste provee. Por tal razón, surge el interés de evaluar la aplicación de ensayos toxicológicos basándose en el uso de *Artemia salina* para los sedimentos del área de estudio. Se pretende así contar con métodos más baratos que sirvan de indicadores continuos de toxicidad en el medio, referente a metales pesados, entre otros contaminantes.

El presente proyecto busca evaluar la viabilidad del uso de ensayos toxicológicos basados en *Artemia salina* para determinar los niveles de toxicidad presentes en muestras de sedimentos del Estero Salado y Manglares Churute. Adicionalmente se determinará en los sedimentos los niveles de metales pesados presentes, su biodisponibilidad y geoacumulación.

# **CAPÍTULO 1**



# CAPÍTULO 1

## 1. MARCO TEÓRICO

### 1.1. Movilización de metales pesados

Un estuario es un sistema complejo gobernado por la acción de la marea y corriente de río. La mezcla de agua salada y agua dulce constituye un dinámico (Hierro et al., 2014).

En sistemas acuáticos los sedimentos poseen componentes transportados por partículas actuando estos como fuente de polución, teniendo la capacidad de retener y liberar los contaminantes a la columna de agua a través de mecanismos de absorción y desorción (Wang et al., 2016).

Existen dos tipos de contaminación al referirnos a sedimentos los geogénicos y los antropogénicos, siendo estos últimos los resultantes de actividades industriales, residuos sólidos, mineros, agrícolas, entre otros contaminantes que no proceden de la propia roca en la cual se formó el mismo.

La posibilidad de que un contaminante o algún otro elemento pase a disolución desde el sedimento toma el nombre de disponibilidad, mientras que la biodisponibilidad es, si este es una fuente potencial para ser capturado por un organismo. Siendo normalmente una pequeña parte de una sustancia potencialmente contaminante biodisponible pero si bioacumulable. La biodisponibilidad depende de la forma física y química en la cual se encuentre el contaminante en el medio y la capacidad de los organismos para tomarlos del mismo. La contaminación por metales pesados en los estuarios ha causado graves

problemas en todo el mundo debido a su toxicidad, fuentes, propiedades no biodegradables y comportamientos de acumulación (Li et al., 2013).

## **1.2. Metales pesados en sedimentos**

En los sedimentos, los metales pesados presentan diferentes características y comportamientos en términos de interacción química, movilidad, disponibilidad y toxicidad potencial (Pagnanelli et al., 2004) .

Es necesario identificar y cuantificar el modo de aparición en el que está presente un metal para obtener una comprensión más precisa del potencial y los impactos reales del nivel elevado de metales en los sedimentos, además de evaluar procesos de transporte, deposición y liberación en condiciones ambientales cambiantes (Sauquillo et al., 2003).

La mayoría de estudios sobre la contaminación de sedimentos por metales pesados utilizan únicamente el contenido total de metales como criterio para evaluar su potencial efecto como contaminante, los mismos mostrados en la tabla 12-1. La concentración total de metales proporciona información limitada para evaluar la biodisponibilidad o toxicidad de los metales. Una evaluación de los niveles totales de metales después de una fuerte digestión ácida del sedimento puede ser útil como un índice global de contaminación, más no como una fuente biodisponible.

Tabla 1.2-1. Concentraciones de sedimentos estuarinos en el mundo.

Lugar	Pb	Zn	Cu	Cr	Ni	Cd	As	Referencia
<b>Estero Salado, Ecuador</b>	49,50	378,96	172,18	64,42	60,14	0,50	5,12	(Fernández et al., 2014)
<b>Ciénaga Grande, Colombia</b>	81,7	65	20,3	42,8	19,8	2,99	ND	(Espinosa et al., 2011)
<b>Sai Kung-Check Hong kong</b>	31,2	43	2,5	1,2	2,9	0,32	ND	(Tam and Wong, 2000)
<b>South Port Klang Malaysia</b>	96,02	72,2	24,89	60,19	13,9	1,46	63,2	(Sany et al., 2013)
<b>Sado Estuary Portugal</b>	69	507	195	63	15,09	8	50	(Caeiro et al., 2005)
<b>Fediouth, Senegal</b>	2,4	5,4	3,5	28,8	2,5	0,03	ND	(Bodin et al., 2013)
<b>Jambo, India</b>	34,7	98,3	17,9	ND	32,2	4,4	ND	(Behera et al., 2013)

Fuente: Fernández et al., 2014

Todos los enfoques mencionados se centran en la evaluación del riesgo ecológico de la concentración total del metal en el sedimento. Sin embargo, la contaminación natural de metales pesados está en forma de contaminación combinada.

La movilidad de un metal pesado es baja pero depende de algunos parámetros como son: pH, materia orgánica, tipo de suelo (arcilla), carbonatos, entre otros. Respecto al pH la mayoría de los metales están disponibles a pH ácido, debido a que son menos adsorbidos, exceptuando el Cr, Mo y Se. El tipo de suelo arcilloso retiene más metales tanto por adsorción o por complejo de cambio entre minerales de arcilla, contrariamente a los arenosos que carecen capacidad de fijación. (Sierra, 2005)

Debido a las condiciones químicas y geológicas, los metales pesados en los sedimentos pueden existir en diferentes formas: soluble, intercambiable, ligado a la materia orgánica, ocluido en óxidos de Mn o Fe, como componente de carbonatos, fosfatos, sulfuros u otros minerales secundarios, como silicatos (residual) (Tessier et al. 1979). Por lo tanto, el portador de operaciones de análisis de fases de los metales pesados podría proporcionar mucha información útil sobre la naturaleza química o potencial de movilidad y la biodisponibilidad de un elemento en particular, que por lo tanto puede ofrecer una estimación más realista del impacto ambiental real (Yang, 2009). El protocolo más utilizado para extracción secuencial selectiva es el de Tessier et al., 1979.

### 1.3. Características *Artemia salina*

La *Artemia salina* es un crustáceo que se alimentan principalmente de fitoplancton siendo un importante consumidor primario (Sorgeloos, 1980) de importancia económica que se utiliza en acuicultura.

Durante los últimos 50 años como muestra la figura 1.3-1, varios invertebrados fueron evaluados para investigar su sensibilidad a muchos agentes físicos y químicos para su posible uso como modelos toxicológicos. Internacionalmente, la *Artemia Salina* es una de las especies más utilizadas para las pruebas de toxicidad (Persoone, 1993).

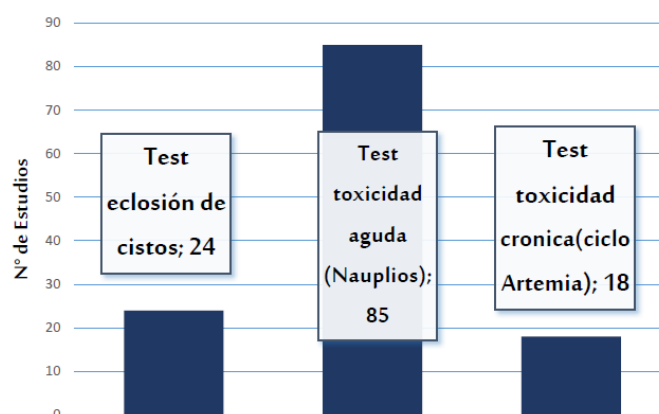


Figura 1.3-1. Estudios publicados con *Artemia salina* de toxicidad

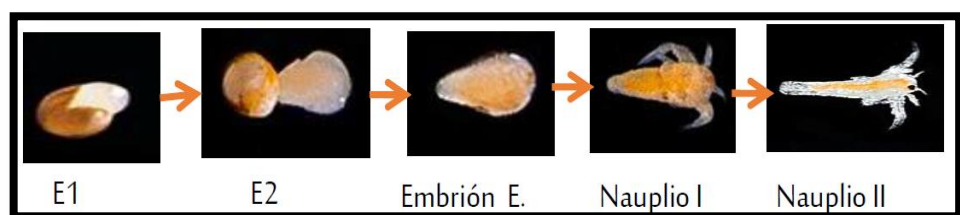
Fuente: Libralatoa et al., 2016.

Las principales ventajas del uso de estos pequeños crustáceos en las pruebas de toxicidad son: la rapidez del bioensayo (28 - 72 h desde la eclosión), rentabilidad, disponibilidad de quistes duraderos comerciales, disponibilidad todo el año. (Manfra et al., 2012)

Otras ventajas son el buen conocimiento de su biología y ecología, fácil manipulación y mantenimiento en condiciones de laboratorio, cuerpo pequeño tamaño que permite el alojamiento en pequeños vasos o microplacas y alta adaptabilidad a diversas condiciones de ensayo. (Nunes et al., 2006)

Los quistes de *Artemia salina* tienen un proceso de descapculación, después de un período de desarrollo en el quiste, las larvas pre-nauplio emergen a través de una grieta en la cáscara del quiste. Unas horas después, las larvas de nauplio nadan libremente.

Existe actualmente un amplio conocimiento de la fisiología, bioquímica y biología de este período de *Artemia* (Bagshaw y Warner, 1979), lo que posibilita la comparación con el desarrollo normal de la misma (figura 1.3-2).



**Figura 1.3-2. Proceso de eclosión**

*Fuente: Libralatoa et al., 2016.*

#### **1.4. Concentraciones evaluadas en toxicidad por *Artemia salina***

De acuerdo a la revisión de la literatura y a los estudios que se han hecho de toxicidad empleando la *Artemia salina*, se puede realizar un cuadro de algunas de las concentraciones a las cuales tanto cistos como

nauplios presentan efectos letales expuestos en la tabla 1.4-1 y tabla 1.4-2.

**Tabla 1.4-1. Concentraciones evaluadas en toxicidad durante eclosión**

Referencia	Compuesto	Indicador
(Garaventa et al., 2010)	Piritiota de Zinc	LC(48) <sub>50</sub> = 35.74mg/L
	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S <sub>2</sub> Zn	EC(48) <sub>50</sub> = 11.19mg/L
(Huang et al., 2015)	Cd	LC(48) <sub>50</sub> = 0,212mg/L
	K <sub>2</sub> CrO <sub>7</sub>	LC(48) <sub>50</sub> = 32mg/L
(Manfra et al., 2015)	CuSO <sub>4</sub>	LC(48) <sub>50</sub> = 2.51±0.22mg/L
		EC(48) <sub>50</sub> = 2.51±0.37mg/L
(Mac Rae and Pandey, 1991)	Cu	LC(72) <sub>50</sub> = 0.0064mg/L
	Pb	LC(72) <sub>50</sub> = 0.0207mg/L
	Zn	LC(72) <sub>50</sub> = 0.065mg/L
	Ni	LC(72) <sub>50</sub> = 0.587mg/L

*Fuente: Libralatoa et al., 2016.*

**Tabla 1.4-2. Concentraciones evaluadas en toxicidad durante la fase de nauplio**

Referencia	Compuesto	Indicador
(APAT and IRSA-CNR, 2003)	K <sub>2</sub> CrO <sub>7</sub>	EC(48)= 16±8.4mg/L
	CuSO <sub>4</sub>	EC(48)= 4.5±2.0mg/L
(Guzzella, 1997)	K <sub>2</sub> CrO <sub>7</sub>	EC(48)= 16±8.4mg/L
	CuSO <sub>4</sub>	EC(48)= 4.5±2.0mg/L
(Kissa et al., 1984)	Cd	LC(48) <sub>50</sub> = 160mg/L
	Ni	LC(48) <sub>50</sub> = 163mg/L
	Co	LC(48) <sub>50</sub> = 172mg/L
	Cr	LC(48) <sub>50</sub> = 8mg/L
(Manfra et al., 2015)	CuSO <sub>4</sub>	EC(48)= 5.63 – 23.31
(Togulga, 1998)	K <sub>2</sub> CrO <sub>7</sub>	LC(48) <sub>50</sub> = 34mg/L

*Fuente: Libralatoa et al., 2016.*

El cadmio es extremadamente tóxico para los adultos y para las larvas Artemia, pero las LC50 reportadas son tan altas como 10 mM (Trieff, 1980, Sleet y Brendel, 1985). Se demuestra según la revisión de la concentración de toxicidad a la cual las larvas pre-nauplio fueron

expuestas antes de la eclosión son mucho más sensibles al cadmio que las larvas de náuplios nacidas. El cadmio retarda el desarrollo y la eclosión de larvas; concentraciones más altas bloquean la eclosión casi completamente y por lo tanto son letales. Sin embargo, las larvas detenidas en la etapa de emergencia sobreviven durante 24 horas o más antes de sucumbir a los efectos del cadmio, y durante este período el efecto potencialmente letal es reversible si las larvas se colocan en un medio libre de cadmio. Los efectos del zinc es similar a los del cadmio, aunque el zinc es menos tóxico a concentraciones iguales.

### **1.5. Estero Salado y Manglares Churute**

El Golfo de Guayaquil es una de las zonas más productivas de la noroeste de América del Sur. Esta área contiene el 81% del sistema de manglares ecuatoriano. (Monserrate et al., 2011)

En el Golfo de Guayaquil, los ríos de agua dulce que descienden de las montañas convergen con el agua salada del mar; forman el mayor estuario de la costa del Pacífico de Sudamérica. Donde se encuentra la mayor área de manglares de los estuarios de Ecuador. Hacia el sur de la región se encuentran los manglares Churute (figura 1.5-2), la primera área protegida de manglares en Ecuador.

Además de los manglares, la reserva también protege ecosistemas áridos y ecosistemas de bosques nubosos ubicados en las colinas de la Cordillera Churute.

La reserva es el hogar de muchas especies de vida silvestre, algunas en peligro de extinción como el Canción, un ave acuática que vive en un lago del mismo nombre, y un cocodrilo costero, que ya ha desaparecido en otras partes de la costa. Debido a la diversidad y la extensión de humedales que la reserva protege, en 1990 fue declarada sitio Ramsar, un humedal reconocido internacionalmente de importancia.

El Estero Salado (figura 1.5-1) está localizado al noroeste del estuario del Golfo de Guayaquil y al suroeste de esta misma ciudad. Se encuentra integrado por áreas salitrales, remanentes de bosque seco tropical y bosque de manglar. Tiene una longitud aproximada de 60 kilómetros desde el puerto marítimo de Guayaquil hasta Posorja, siendo importante el estudio del mismo.



**Figura 1.5-1. Estero Salado**



**Figura 1.5-2. Manglares Churute**



## **CAPÍTULO 2**

# CAPÍTULO 2

## 2. METODOLOGÍA

### 2.1. Puntos de muestreo

Las muestras de sedimento se centraron en tres puntos en el Estero salado como se muestra en la figura 2.1-1. Caracterizada por su zona industrial y tres puntos en Manglares de Churute caracterizada por ser una reserva ecológica.

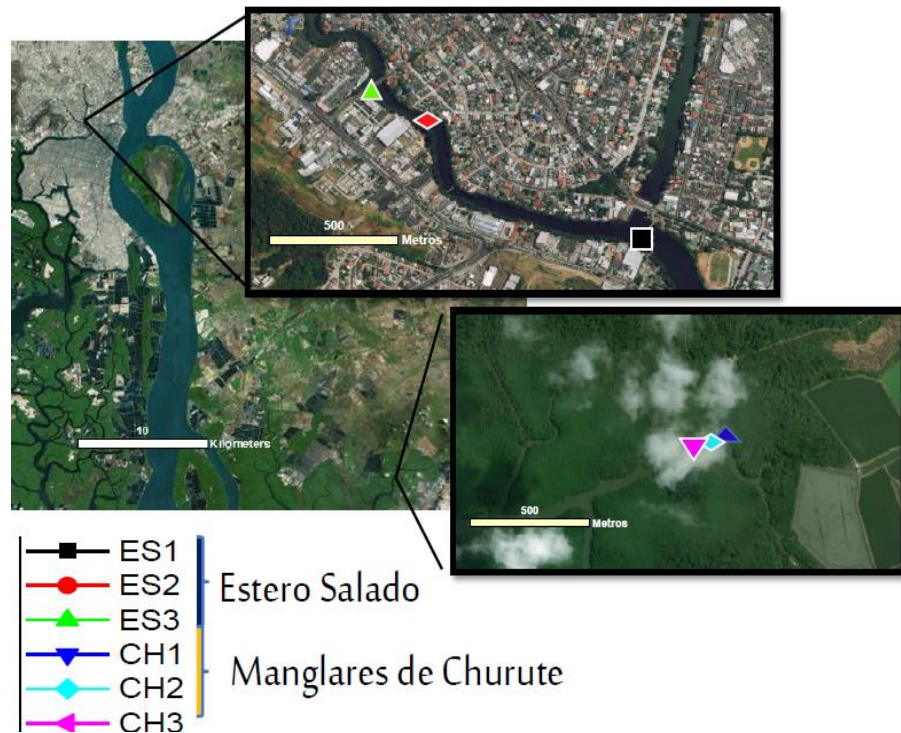


Figura 2.1-1. Ubicación de los sitios de toma de muestras, ubicados en el área urbana del Estero Salado y la Reserva Ecológica Manglares Churute

**Tabla 2.1-1. Coordenadas de los sitios de muestreo**

Sitio de muestreo	Latitud	Longitud
<b>ES1</b>	-2172741	-79,913034
<b>ES2</b>	-2,174118	-70,01158
<b>ES3</b>	-2,178889	-79,903667
<b>CH1</b>	-2,427305	-79,661694
<b>CH2</b>	-2,427515	-79,662015
<b>CH3</b>	-2,427701	-79,662501

En la tabla 2.1-1 se muestran las coordenadas de los sitios de muestreo con su latitud y longitud respectivamente. Mostrándose tres sitios para churute y tres sitios para Estero salado.

## **2.2. Recogida, transporte y conservación de muestras**

Los sedimentos superficiales son los que están expuestos a cambios de marea, por tanto, tienden a ser más inestables y liberados a la columna de agua. El muestreo se realizó con la ayuda de un marco de plástico de 40x20x10 cm en la zona intermareal en marea baja como muestra la figura 2.2-2. Con la extracción debida usando palas de plástico, medidas necesarias para evitar contaminación con metales.

En cada punto de muestreo se almaceno sedimento en 4 bolsas plásticas (figura 2.2-1) medianas tipo ziploc, procurando su almacenamiento a temperatura menor a 20°C inmediatamente después del muestreo. Una vez en el laboratorio 3 bolsas plásticas se guardaron a 4°C y 1 a -15°C para sus análisis posteriores. También fueron tomadas muestras de agua en botellas de plástico color ámbar para el respectivo análisis en el laboratorio.



**Figura 2.2-1. Etiquetado de nuestras**



**Figura 2.2-2. Delimitación zona**

### **2.3. Parámetros realizados in-situ del Estero Salado y Manglares de Churute**

La medición de los parámetros: pH, temperatura, conductividad y oxígeno disuelto se realizaron con la sonda HANNA HI9828 calibrada previamente (figura 2.3-1). Cada parámetro tiene un rango de importancia en la vida acuática, el pH de aguas naturales presentan un pH entre 5,5 y 8,5 mientras que concentraciones de oxígeno menores a 5mg.L-1 pueden ser señal de un proceso de eutrofización en el medio.



**Figura 2.3-1. Toma multi-parámetro**

## **2.4. Secado**

El secado se realizó al ambiente en recipientes planos con cubierta de plástico (figura 2.4-1) siguiendo la norma ISO11464:1994 con un tiempo estimado de secado de aproximadamente 5 días, para su posterior pulverización con mortero de caucho.



**Figura 2.4-1. Secado muestras**

## **2.5. Granulometría**

Técnica sencilla que permite la caracterización de sedimentos por un análisis de la distribución del tamaño de las partículas del sedimento, llevada a cabo por medio de tamices ASTM estandarizados de abertura de malla decreciente. La técnica se realizó según la norma internacional ISO 11277:1998 siendo el tamizado en seco. Se utilizó el tamizador RX-

24 (figura 2.5-1), tamices ASTM 2, 0.5, 0.063 y 0.038 mm por un tiempo de agitación de 10 minutos cada muestra, pesando y registrándose la cantidad de sedimento en cada matiz para posterior cálculo de porcentaje.



**Figura 2.5-1. Tamizador**

## **2.6. Caracterización Físico-química del sedimento**

### **2.6.1. Materia Orgánica**

El porcentaje en peso de materia orgánica se determinó por el método de pérdida de masa por ignición (figura 2.6.1-1). La materia orgánica es oxidada a 510°C dejando ceniza y CO<sub>2</sub> siendo muy fácil el cálculo de la pérdida de masa por este proceso. Para este método se prepararon los crisoles, se rotularon con lápiz para luego secarlos al horno a 100°C por 15. Se preparara la balanza y se pesan los crisoles para posteriormente registrar como peso de crisol.

Las muestras de sedimento preservadas se descongelan hasta adquirir una consistencia manejable, se homogeniza la muestra para llenar cada crisol con un mínimo de 50 g de cada muestra húmeda. Se pesa y registra para luego secar la muestra a 105°C por 17 horas, se retira y lleva desecador por 60 minutos, pesar y registrar.

Los crisoles son ingresados a la mufla usando siempre pinzas y guantes por 8 horas a 440°C, luego retirados y llevados al desecador por 2 horas, se pesa y registra.

Para este método se usaron 6 crisoles de porcelana de 50 mL de capacidad para cada una de las 6 muestras de sedimento, balanza electrónica con una sensibilidad mínima de 0,01 g, horno con temperatura continua  $\pm 5^{\circ}\text{C}$ , desecador con sílica gel, mufla thermo scientific con temperatura continua  $\pm 10^{\circ}\text{C}$ .

$$\text{MOPI550} = ((W105 - W550) / W105) \times 100$$

MOPI 500: contenido de materia orgánica (porcentaje), W105: peso seco de la muestra antes de la combustión y el W550 el peso seco de la muestra después de la combustión.



**Figura 2.6.1-1. Muestras en mufla**

## **2.6.2. Extracción metales totales**

Se toma una muestra de 0,5 g y es digerida con agua regia a 90°C por dos horas en un bloque de digestión. Cada muestra es diluida y analizada por Perkin Elmer Sciex ELAN 6000, 6100 o 9000; espectrómetro de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS). Se emplea un blanco que se ajusta cada 68 muestras y un

control interno cada 33 muestras, tomando en cuenta que se calibra el equipo cada 68 muestras.

Estos análisis se realizaron en ActLabs, laboratorio canadiense que reporto los datos con valores de porcentaje de recuperación y desviación estándar.

### 2.6.3. Extracción secuencial selectiva

Se pesa 1 g de sedimento seco y se agrega a un tubo de centrifuga plástico de 15 mL para iniciar la extracción, que se divide en cuatro fases:

**Fase 1- cationes intercambiables:** El sedimento se extrajo por medio de agitación (figura 2.6.3-1) a temperatura ambiente durante 1 hora, se mezcló con 8 mL de una solución de nitrato de potasio ( $\text{KNO}_3$ ) 1 M.



Figura 2.6.3-1. Multi mixer

**Fase 2- carbonatos:** El residuo se lixivio a temperatura ambiente con 8 mL de Acetato de sodio ( $\text{NaOAc}$ ) 1 M ajustando el pH a 5 con ácido acético ( $\text{CH}_3\text{-COOH}$ ), se mantiene la agitación continua por 5 horas.

**Fase 3- óxidos e hidróxidos:** El residuo de la fase 2 se extrajo con 20 mL de clorhidrato de hidroxilamina 0,04 M en 25% (v/v) de ácido acético, este proceso se realizó en el equipo HACH DRB 200 (figura



2.6.3-2) 95°C en tubos de vidrio con agitación ocasional durante 6 horas.



**Figura 2.6.3-2. Fase 3 en el equipo HACH**

**Fase 4- materia orgánica:** El residuo sólido de la etapa anterior se le agrega a un vaso de precipitación de 150 mL con la ayuda de 3 mL de ácido nítrico 0,02 M y 5 mL de peróxido de hidrogeno ( $H_2O_2$ ) al 30%, se ajusta el pH a 2 con ácido nítrico ( $HNO_3$ ) y se agita ocasionalmente durante un tiempo de 2 horas a una temperatura de 85°C en una plancha de calentamiento(figura 2.6.3-3). En el mismo vaso de precipitación se agregan 3 mL de peróxido de hidrogeno ( $H_2O_2$ ) al 30% manteniendo la temperatura a 85°C durante 3 horas con agitación ocasional.



**Figura 2.6.3-3. Planchas de calentamiento**

Posteriormente se agregan 5 mL de acetato de amonio ( $C_2H_3O_2NH_4$ ), 3,2 M en 20% (v/v) de  $HNO_3$ , diluido a 20 mL agitándose continuamente a temperatura ambiente por 30 minutos.

Se deja enfriar la mezcla y se lleva el contenido a un tubo de centrifuga sin perder en lo posible sedimento.

Cada extracción selectiva se llevó a cabo en tubos de centrifuga (polipropileno, 15 mL) para minimizar las pérdidas del material sólido. Entre cada sucesión de extracción, la separación se efectuó mediante centrifugación por medio del ROTOFIX 32A (figura 2.6.3-4) a 30.000 rpm por 60 minutos.



**Figura 2.6.3-4. Centrífuga**

El sobrenadante se retiró con una pipeta de 5 mL se agregó a un tubo de centrifuga de 15 mL y se refrigeró a 4°C para posterior análisis, mientras que los residuos se lavaron con 8 mL de agua tipo 1; después de centrifugación durante 30 minutos a 30.000 rpm, se desechó el segundo sobrenadante. El volumen de agua de enjuague utilizado se mantuvo al mínimo para evitar la solubilización excesiva de material sólido, especialmente materia orgánica.

El agua tipo 1 utilizada en la preparación de soluciones madre y en el paso del procedimiento de lixiviación se obtuvo del sistema WaterPro BT(figura 2.6.3-5).



**Figura 2.6.3-5. Equipo Water Pro**

Todos los objetos de vidrio utilizados para los experimentos fueron lavados previamente en HNO al 14%, (v/v) y se enjuagó con agua tipo 1, además de utilizar el Fisher Scientific (figura 2.6.3-6) con el fin de realizar un control adecuado en el lavado.



**Figura 2.6.3-6. Fisher Scientific**

Todos los reactivos utilizados en este proyecto fueron de grado analítico y se verificó la posible traza de metal de todos los reactivos utilizados.

## **2.7. Caracterización toxicológica del sedimento**

### **2.7.1. Preparacion del agua**

Se utilizó agua de mar filtrada y tratada con calidad para bioensayos proveniente del CENAIM, la cual fue diluida hasta 25 ppt con agua tipo 1. Posteriormente fue esterilizada en la autoclave Sterilizer SM300.

Se procedió a realizar una extracción solido-líquido con 40 g de sedimento y 160 mL de agua a 25 ppt. Este proceso se realizó durante 1 hora en una plancha de agitación magnética, posteriormente se llevó a un proceso de decantación (figura 2.7.1-1) durante 2 horas y con el fin de clarificar el agua se toma el sobrenadante y se centrifugó a 30000 revoluciones por 1 hora.



**Figura 2.7.1-1. Decantación**

Se toman 15 mL del agua extraída de cada sedimento, se acidifica con ácido nítrico y se refrigera a 4°C para su posterior análisis de Cd y Pb en el espectrofotómetro de absorción atómica.

Se midieron los parámetros del agua extraída con el multiparámetro HANNA mostrados en la tabla 2.7.1-1. Como se muestra en la tabla 2.7.1-1 teniendo en cuenta que el oxígeno disuelto debe estar mayor 2 mg/L.

**Tabla 2.7.1-1. Parámetros del agua para bioensayo**

T °C	OD mg/L	% Saturación	Salinidad	Cond. mS/cm	pH
25,1	5,47	66,1	25,1	39,36	8,4

### 2.7.2. Preparacion de cistos

Se pesan 0,15 g de cistos de *Artemia salina* gls 210 y se hidratan con agua tipo 1 bajo aireación durante 2 horas en un Erlenmeyer de 100 mL (figura 2.7.2-1). Posteriormente con la ayuda del tamiz N°400 se

elimina el agua y se agregan en una disolución 20 ppm de hipoclorito de sodio con aeración durante 8 min para su descapsulación. Se procede a eliminar la solución mediante el tamiz N°400 (figura 2.7.2-2) y a lavar los cistos hidratados con 100 mL de agua destilada, se repiten los lavados hasta eliminar el olor de la solución.

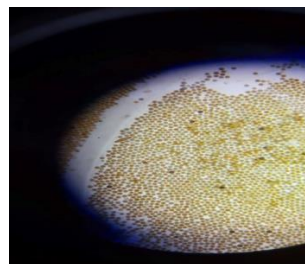


**Figura 2.7.2-1. Descapsulación**



**Figura 2.7.2-2. Tamiz N°400**

Una vez terminado el proceso, se toman los cistos (figura 2.7.2-3) que se encuentran en el fondo del Erlenmeyer y se analizan en el estereoscopio. Se toman aquellos cistos de color naranja claro a transparente con la ayuda de una pipeta Pasteur y se implantan 20 cistos en cada caja Petri de plástico de 20 mL, que tendrá un volumen final de agua extraída de cada sedimento de 10 mL.



**Figura 2.7.2-3. Cistos hidratados y descapsulados**

### 2.7.3. Corrida del bioensayo

Una vez preparados los triplicados de cada extracción de sedimento teniendo un total para este caso de 18 cajas Petri. Se procede a preparar el positivo con una disolución de 20 ppm de dicromato de potasio y el blanco que es el agua de mar a 25 ppt. Cada una por triplicado y siguiendo el mismo mecanismo de implantación de cistos hidratados.

Se ingresan en la incubadora (figura 2.7.3-1) a 28°C con iluminación constante ubicada a 15 cm de las cajas Petri durante las 12 primeras horas, posteriormente empieza su ciclo de iluminación de 12 horas.



Figura 2.7.3-1. Bioensayo

La cajas Petri son revisadas a través de estereoscopio a partir de las 12 primeras horas cada 3 horas con el fin de evaluar su desarrollo y porcentaje de eclosión. Como se muestra en la tabla 2.7.3-1 una vez cumplidas las 24 horas de revisan las cajas Petri a las 36, 39 y 48 horas. Cada revisión se realiza mediante el estereoscopio LEICA EZ24.

Tabla 2.7.3-1. Registro bioensayo *Artemia salina* eclosionadas en horas

		Artemias eclosionadas								
Zona	Replica	0	12	15	18	24	36	39	48	

## 2.8. Espectrofotómetro de absorción atómica

Método que permite analizar los átomos que han sido liberados a la matriz de fase condensada a través de la absorción de la zona UV-visible emitida por los átomos o iones elementales gaseosos del analito y los átomos contenidos en la matriz, que para este último caso se requiere de extracción previa sometiéndose a una digestión acida con el fin de usar moléculas con mayor radiación UV-visible.

Se usó el método de detección en llama (figura 2.8-1) tanto para cadmio y plomo, para la curva de calibración se utilizan diferentes tipos de analitos siendo el blanco y los estándares preparados a partir de la solución madre de 1000 ppm del metal a analizar.

El resultado final es el promedio de 3 mediciones realizadas y verificando que la recta de calibración sea lineal, con una desviación cuadrática igual o mayor a 0,995.

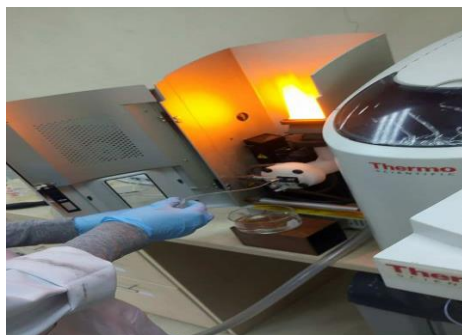


Figura 2.8-1. Espectrofotómetro de absorción atómica Thermo Scientific.

## 2.9. Índice de geo-acumulación ( $I_{geo}$ )

Se utilizó el índice de geo-acumulación ( $I_{geo}$ ) para evaluar el metal pesado acumulado en los sedimentos, introducida por Müller (1969) y utilizados por otros autores, Kalantzi *et al.*, 2013, Shang *et al.*, 2015.

El índice de geo-acumulación puede utilizarse como referencia para estimar la extensión de los procesos de contaminación. El método

evalúa el grado de contaminación de metales en términos de siete clases de enriquecimiento basado en los valores numéricos crecientes del índice. Esta se calcula de la siguiente manera:

$$I_{geo} = \text{Log}_2 \left( \frac{C_n}{1,5B_n} \right) \quad \text{Ec. (2.1)}$$

Donde  $C_n$  es la concentración del elemento en las muestras y  $B_n$  es la concentración geoquímica de fondo de un metal  $n$  tomada del promedio de referencia global de roca superficial (Martin y Meybeck 1979). El factor 1.5 se introduce para minimizar el efecto posibles variaciones en los valores de fondo, que pueden atribuidas a variaciones litológicas en los sedimentos (Turekian y Wedepohl 1961). El índice de geoacumulación consta de siete grados o clases (Müller 1969) que se presentan en la tabla 2.9-1.

**Tabla 2.9-1. Valores  $I_{geo}$**

Valor $I_{geo}$	Clase $I_{geo}$	Grado de contaminación
0	$I_{geo} < 0$	No contaminado
1	$0 < I_{geo} < 1$	No contaminado a moderadamente contaminado
2	$1 < I_{geo} < 2$	Moderadamente contaminado
3	$2 < I_{geo} < 3$	De moderado a fuertemente contaminado
4	$3 < I_{geo} < 4$	Fuertemente contaminado
5	$4 < I_{geo} < 5$	De fuertemente contaminado a extremadamente contaminado
6	$5 < I_{geo} < 6$	Extremadamente contaminado

*Fuente: Müller, 1969*

## 2.10. Factor de enriquecimiento normalizado (EF)

El método consiste en utilizar una referencia elemento de origen terrígeno, principalmente Al, Fe o Si (conocido como metales terrígenos) en este caso se utilizó Fe, para determinar la porción terrígena de metal



(Sterckeman *et al.*, 2006). Para el estudio, el factor de enriquecimiento de los sedimentos se calculó dividiendo su relación con el elemento de normalización por la misma relación encontrada en el fondo. Por lo tanto, EF se calcula utilizando la relación abajo:

$$FE = \frac{\left(\frac{Me}{Fe}\right)_{nuestra}}{\left(\frac{Me}{Fe}\right)_{corteza}} \quad Ec. (2.2)$$

Donde EF es el factor de enriquecimiento, la muestra (Me/Fe) es la proporción de metal y concentración de Fe de la muestra, y (Me/Fe) corteza, es la relación de concentración de metal y Fe de la corteza terrestre.

En este estudio, las concentraciones de los metales de la corteza superficial en sedimentos (Mclennan y Murray, 1999). La ventaja de utilizar el análisis EF es que permite establecer una línea de contaminación que se divide en siete clases mostrada en la tabla 2.10-1 donde se especifica la calidad del sedimento

**Tabla 2.10-1. Valores EF**

<b>Clase EF</b>	<b>Calidad del sedimento</b>
<1	No enriquecido
1=< 3	Enriquecimiento menor
3=< 5	Enriquecimiento moderado
5=< 10	Enriquecimiento moderadamente severo
10=< 25	Enriquecimiento severo
25=< 50	Enriquecimiento muy severo
50	Enriquecimiento extremadamente severo

*Fuente: Sterckeman et al., 2006*

## **2.11. Tratamiento de los resultados**

El análisis estadístico se realizó utilizando el software Statistica. ANOVA se utilizó para comparar los datos de toxicidad baja y alta con las concentraciones de los metales del sedimento de cada zona y una multi-variable utilizando el componente principal (PCA) sobre las concentraciones medidas de metales en sedimentos.

# **CAPÍTULO 3**

# CAPÍTULO 3

## 3. RESULTADOS

### 3.1. Parámetros de agua campo

Se midieron parámetros in-situ mostrados en la tabla 3.1-1. De los cuales el oxígeno disuelto (OD) se mantuvo por debajo de 3,10 mg/L, al igual que el porcentaje de saturación menor a 38%.

**Tabla 3.1-1. Parámetros agua de campo**

Zonas de muestreo	ES1	ES2	ES3	CH1	CH2	CH3
OD (mg/L)	2,83	2,61	3,00	3,00	2,86	3,10
% Saturación	35,70	33,10	38,00	36,70	35,0	37,09
Salinidad (ppt)	8,09	8,46	8,12	2,34	2,25	2,53
Conductividad (us/cm)	13990	14590	14050	4406	4236	4742
pH	7,63	7,37	7,51	7,63	7,69	7,57

### 3.2. Resultados de nutrientes del agua de campo

Las muestras de agua se analizaron en el laboratorio por duplicado, evidenciándose la presencia de nutrientes como nitritos, amonio y fosfatos con su respectiva desviación estándar mostrada en la figura 3.2-1.

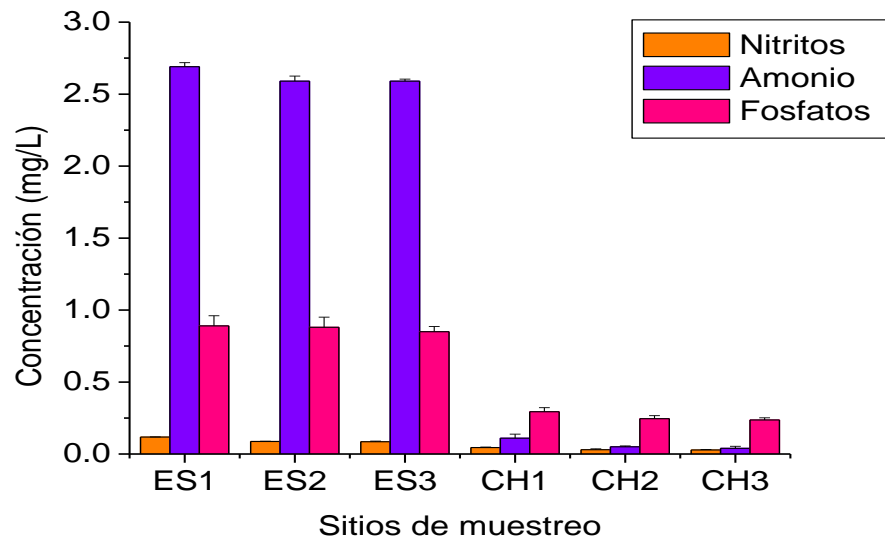


Figura 3.2-1. Concentraciones nutrientes.

### 3.3. Granulometría

Dentro de la caracterización granulométrica se tiene diferentes tamaños de abertura de tamiz en mm cada uno corresponde a un determinado tipo de grano. Siendo las partículas  $>2000$  mm grava fina,  $<2000$  Arena gruesa  $>0,500$ ,  $<0,500$  arena fina  $>0,063$ ,  $<0,063$  limo  $>0,038$  y  $<0,038$  arcilla. En la figura 3.3-1 se muestran los resultados del método.

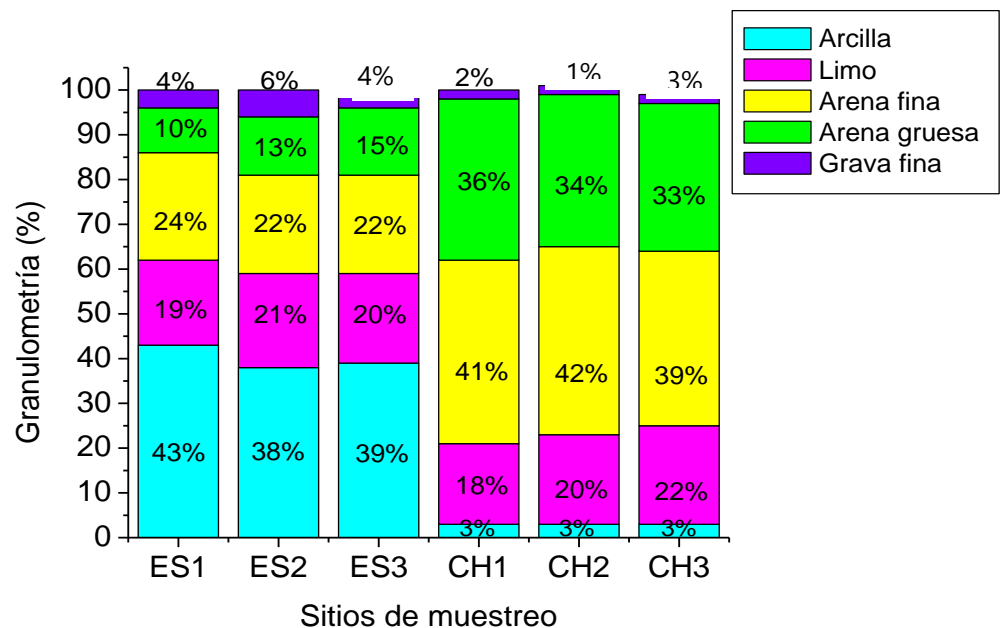


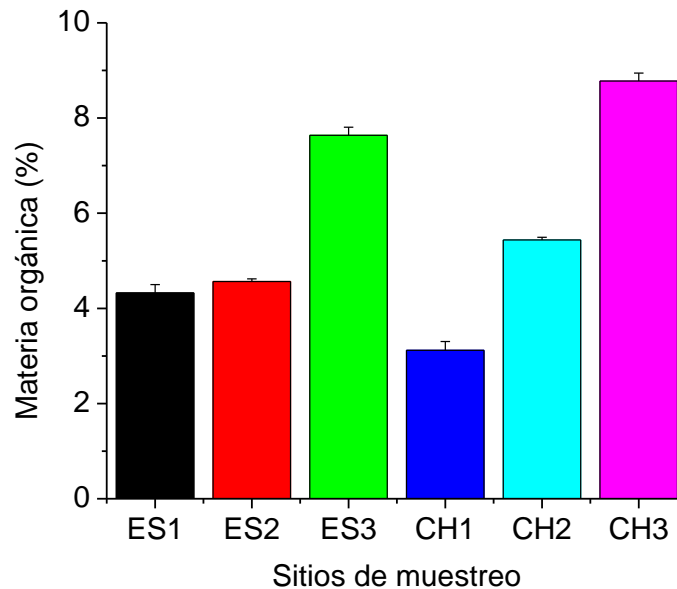
Figura 3.3-1. Gráfico granulometría.

### 3.4. Porcentaje materia orgánica del sedimento

Se realizó el procedimiento para cada muestra de los sitios estudiados por duplicado, mostrándose en la figura 3.4-1 la desviación estándar de cada uno, mientras en la tabla 3.4-1 el % de materia orgánica de cada uno.

**Tabla 3.4-1. Porcentaje Materia Orgánica por zonas**

Estaciones	ES1	ES2	ES3	CH1	CH2	CH3
%MO	4,3231	4,5634	7,6366	3,1197	5,4392	8,7788



**Figura 3.4-1. Materia orgánica (%) en los diferentes sitios.**

### 3.5. Concentración de metales

Los resultados de la tabla 3.5-1 se encuentran expresados en ppm, se indica el porcentaje de recuperación como medida de confiabilidad del método y el límite de detención para cada metal.

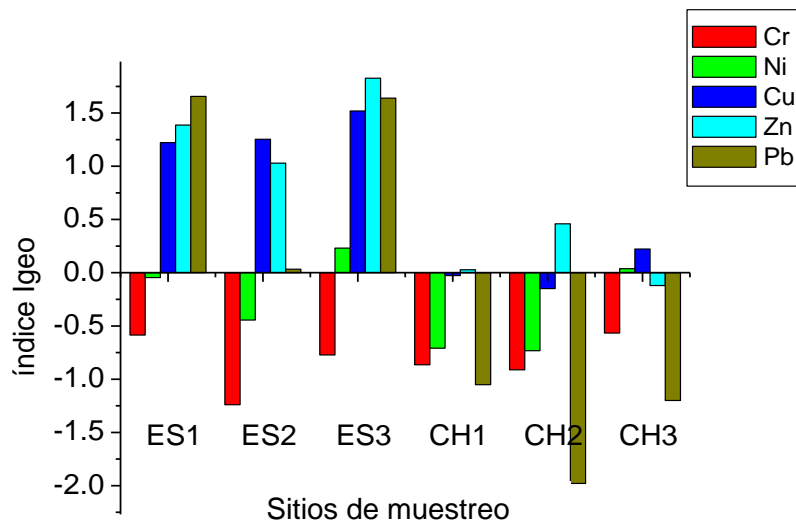
**Tabla 3.5-1. Concentración de metales expresados en ppm**

Símbolo	Cr	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Pb	Hg	Fe
%Recuperación	98,4	103,4	104,8	105,79	97	83,55	87,30	100	101,3
Límite de detección	1	0,1	0,01	0,1	0,1	0,01	0,01	10	0,01
<b>ES1</b>	74,00	<b>58,1*</b>	<b>140*</b>	255,00	4,50	0,38	80,40	0,2	5,94
<b>ES2</b>	47,00	<b>44,1*</b>	<b>143*</b>	199,00	1,60	0,17	26,10	0,06	4,76
<b>ES3</b>	65,00	<b>70,4*</b>	<b>172*</b>	<b>346*</b>	4,40	0,68	79,50	0,25	5,05
<b>CH1</b>	61,00	36,70	58,90	99,40	14,00	0,39	12,30	0,07	4,88
<b>CH2</b>	59,00	36,10	54,10	134,00	2,70	0,24	6,47	0,03	5,10
<b>CH3</b>	75,00	<b>61,6*</b>	70,00	89,70	9,80	0,17	11,10	0,08	4,69

\* Valores que exceden la concentración PEL de la norma canadiense de calidad de los sedimentos para la Protección de la Vida Acuática (CCME, 2013).

### 3.6. Índice de geo-acumulación de Müller

El cálculo de este índice se realizó basándose en la información de metales disponibles para este método. Debido a que la concentración geoquímica de fondo de un metal (Martin y Meybeck 1979) hace referencia a un reducido número de metales. En la figura 3.6-1 se muestran los resultados obtenidos.



**Figura 3.6-1. Gráfico Índice de geo-acumulación.**

### 3.7. Factor de enriquecimiento normalizado

En este estudio, se usaron las concentraciones de los metales de la corteza superficial en sedimentos (Mclennan y Murray, 1999) siendo más extensa su información. El As muestra valores de EF rondando a 6 en CH1, mientras el valor de EF en Pb es superior en ES1 y ES2 comparado con los demás sitios (figura 3.7-1).

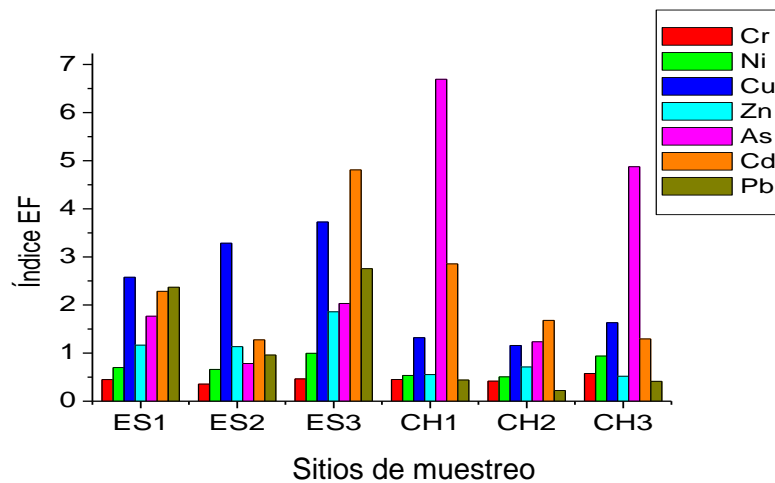
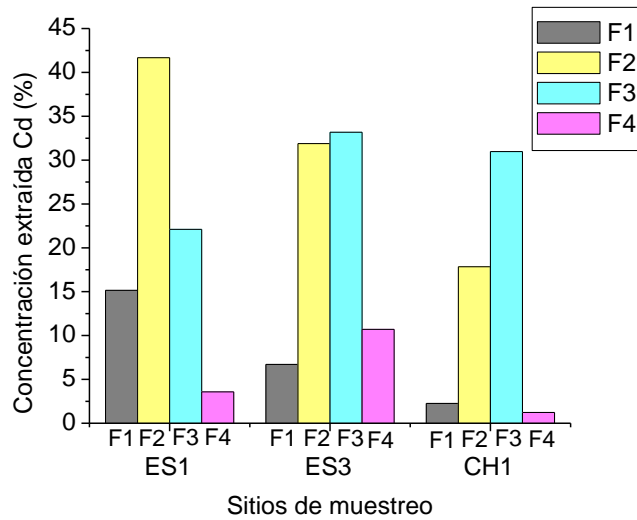


Figura 3.7-1. Gráfico Índice EF.

### 3.8. Extracción secuencial selectiva

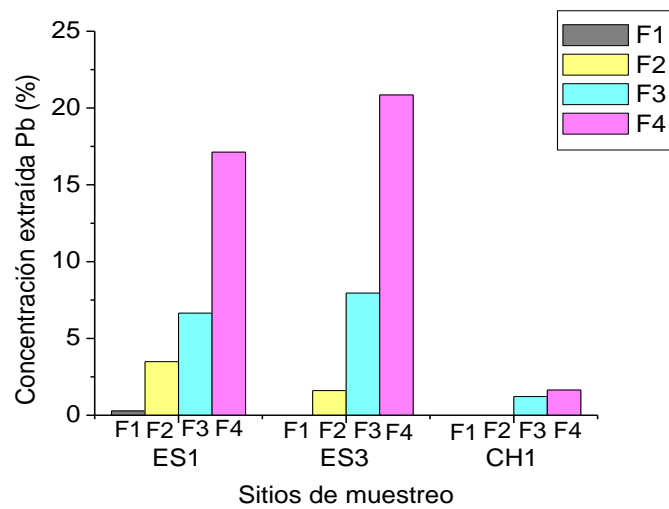
El porcentaje de Cd extraído (figura 3.8-1) en su mayoría de encuentra en F2 y F3, sin embargo, en ES1 la concentración extraída de Cd de F1 alcanza el 15% de la concentración total del sedimento. Se observa que F4 es la fase con menor porcentaje de Cd extraído.





**Figura 3.8-1. Concentración de Cd extraído (%) en las fases de la ESS.**

El porcentaje de concentración de Pb extraído (figura 3.8-2) muestran los mayores valores en F4, siendo esta fase la ligada a materia orgánica. Mientras F1 es la fase con menor concentración de Pb extraído (%).



**Figura 3.8-2. Concentración de Pb extraído (%) en las fases de la ESS.**

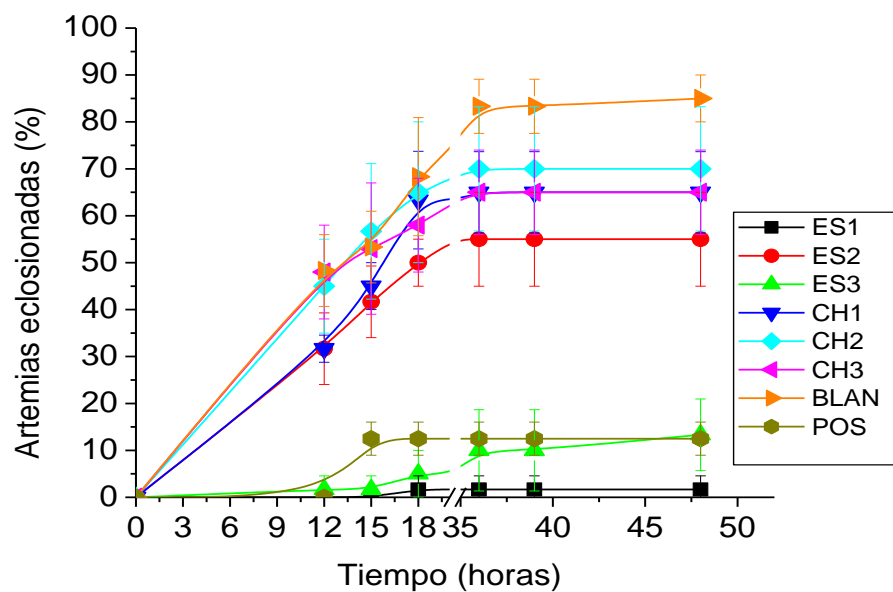
### 3.9. Bioensayo con *Artemia Salina*

En la tabla 3.9-1 se muestran las concentraciones de Cd y Pb en el agua de bioensayo, las mismas que se lograron extraer por agitación mecánica durante 1 h del sedimento en agua a 25 ppt. Las

concentraciones de Pb estuvieron por debajo de límite de detección a excepción de ES1.

**Tabla 3.9-1. Concentración de Cd y Pb en extracto de sedimentos para bioensayo.**

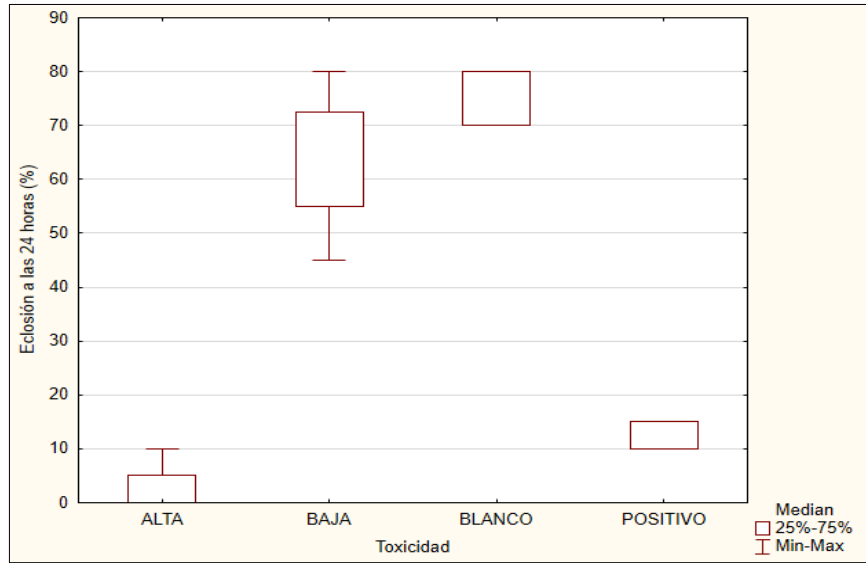
zona	ES1	ES2	ES3	CH1	CH2	CH3
<b>Cd(mg/L)</b>	0,1348	0,0094	0,0356	0,0016	0,0011	0,0014
<b>Pb(mg/L)</b>	0,0084	<0,0030	<0,0030	<0,0030	<0,0030	<0,0030



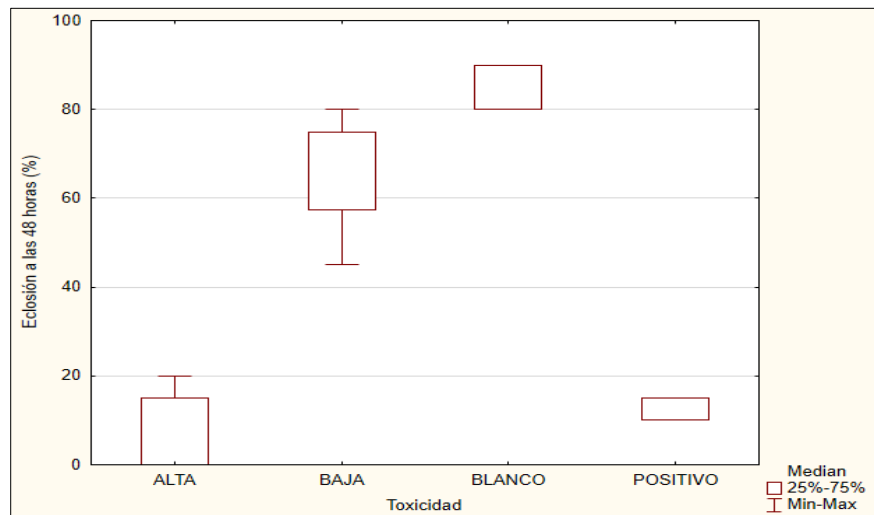
**Figura 3.9-1. Porcentaje de eclosión vs tiempo de incubación.**

En la figura 3.9-1 se muestra el porcentaje de eclosión comparado con el tiempo de incubación, en donde se evidencia el retraso de eclosión tanto en ES1 y ES3

Utilizando el programa Statistica se realizaron algunos métodos, entre ellos ANOVA (figura 3.9-1 y figura 3.93), con el fin de determinar el avance de la eclosión a diferente nivel de toxicidad con el trascurso del tiempo de incubación y evidencia alguna diferencia significativa.



**Figura 3.9-2. ANOVA porcentaje de eclosión 24 h.**



**Figura 3.9-3. ANOVA porcentaje de eclosión 48 h.**

### 3.10. Resultados generales

Para establecer relación entre la caracterización del sedimento y los ensayos de toxicidad, se recurrió al uso de un PCA (figura3.10-1) con el fin de agrupar por zonas la afinidad e estas características. Se obtiene como resultados una estrecha similitud entre ES1 Y ES3.

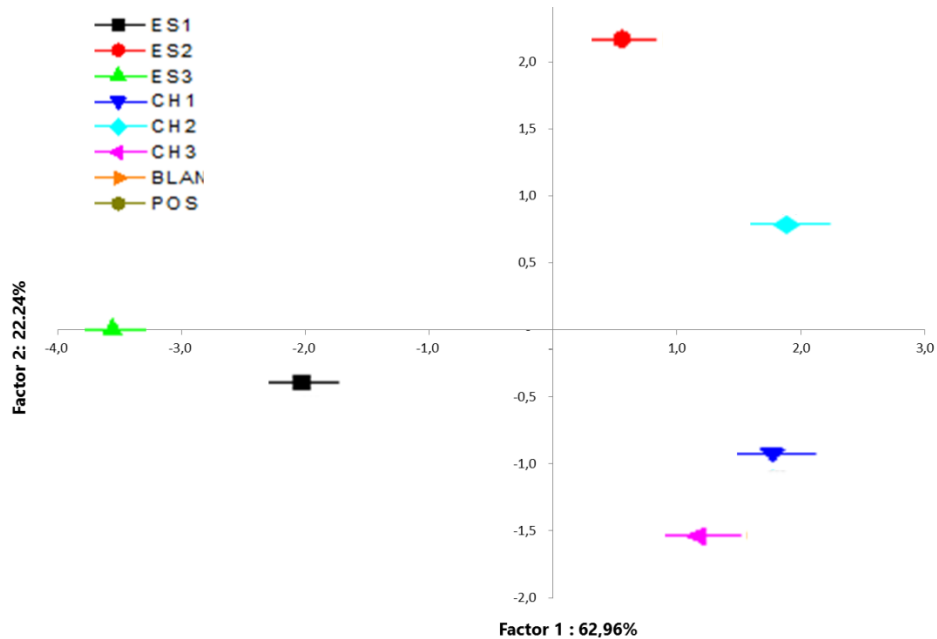


Figura 3.10-1. PCA referente a zonas de muestreo.

Para evaluar la influencia de metales por zona se muestra en la figura 3.10-2 el PCA referente a los diferentes metales analizados, obteniendo que en las zonas de mayor toxicidad ES1 Y ES3 se ven influenciadas mayoritariamente por Pb, Hg, Cd y Ni.

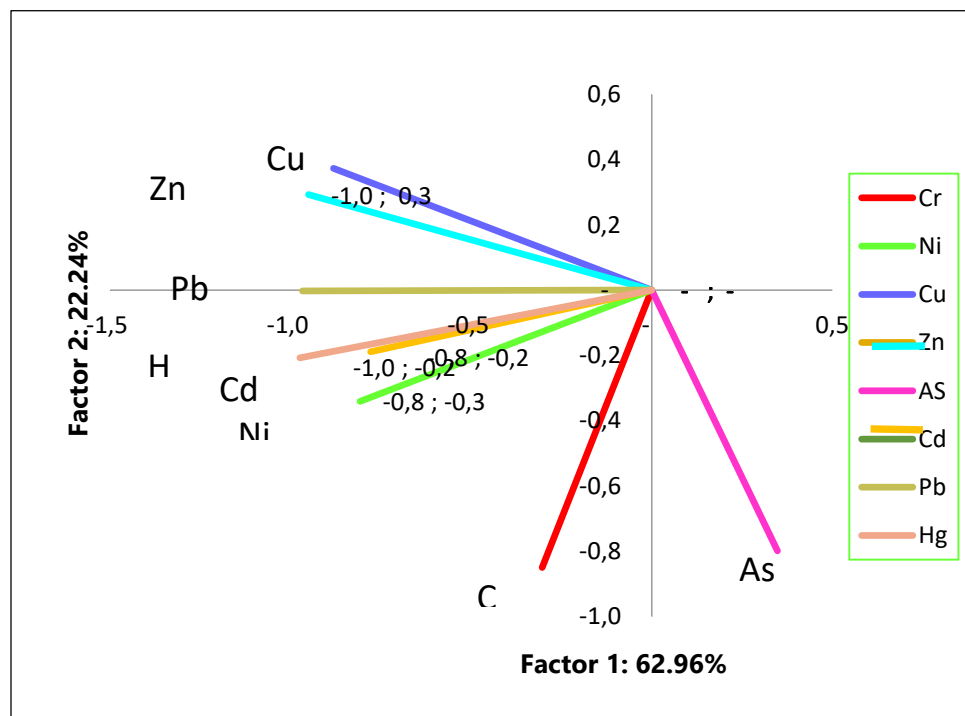
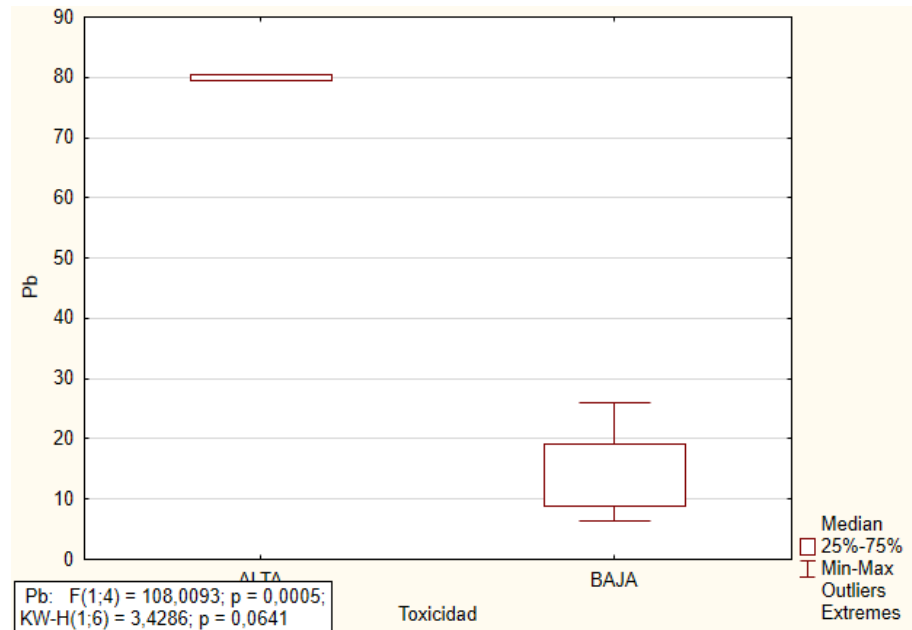
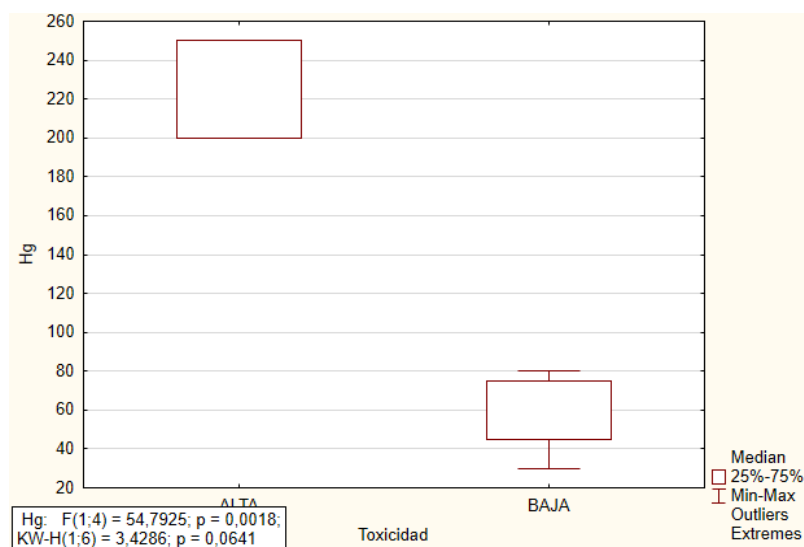


Figura 3.10-2.PCA referente a Metales.

Una vez conocidos los metales que influyen mayoritariamente las zonas de alta toxicidad, se analiza a través del método ANOVA (figura 3.10-3, figura 3.10-4, figura 3.10-5 y figura 3.10-6) la concentración de dichos metales agrupando por efectos de alta y naja toxicidad. Aquellos con un  $p < 0,005$  muestran una diferencia significativa entre la concentración reportada en alta y baja toxicidad.



**Figura 3.10-3. Concentración de Pb expresada en ppm, agrupada en alta y baja toxicidad**



**Figura 3.10-4. Concentración de Hg expresada en ppb, agrupada en alta y baja toxicidad**

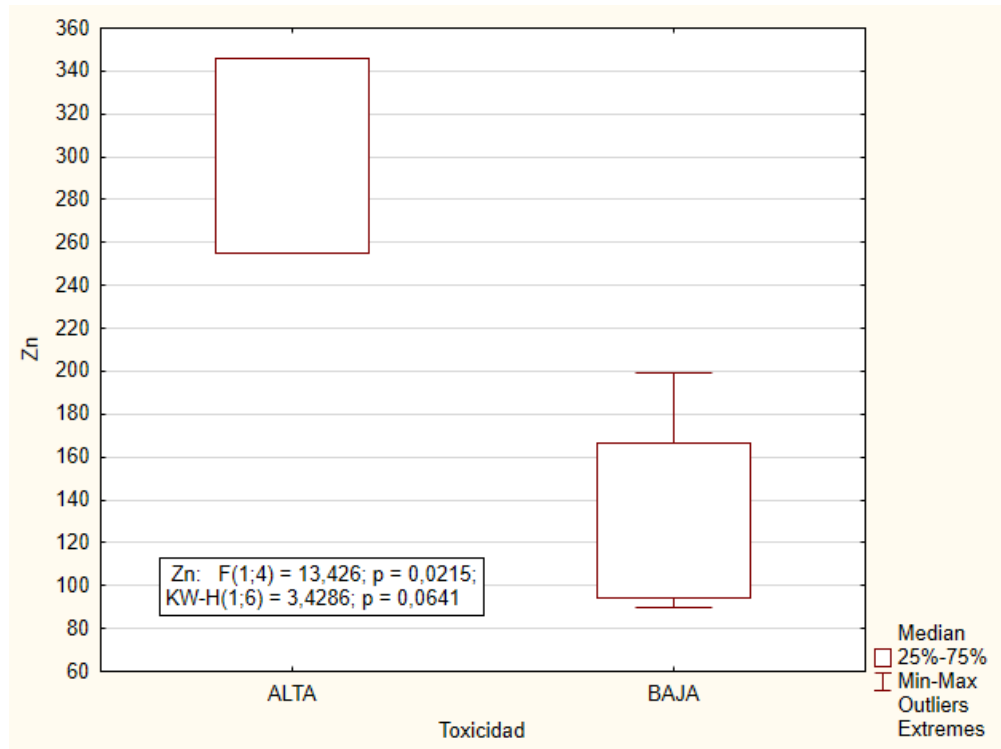


Figura 3.10-5. Concentración de Zn expresada en ppm, agrupada en alta y baja toxicidad

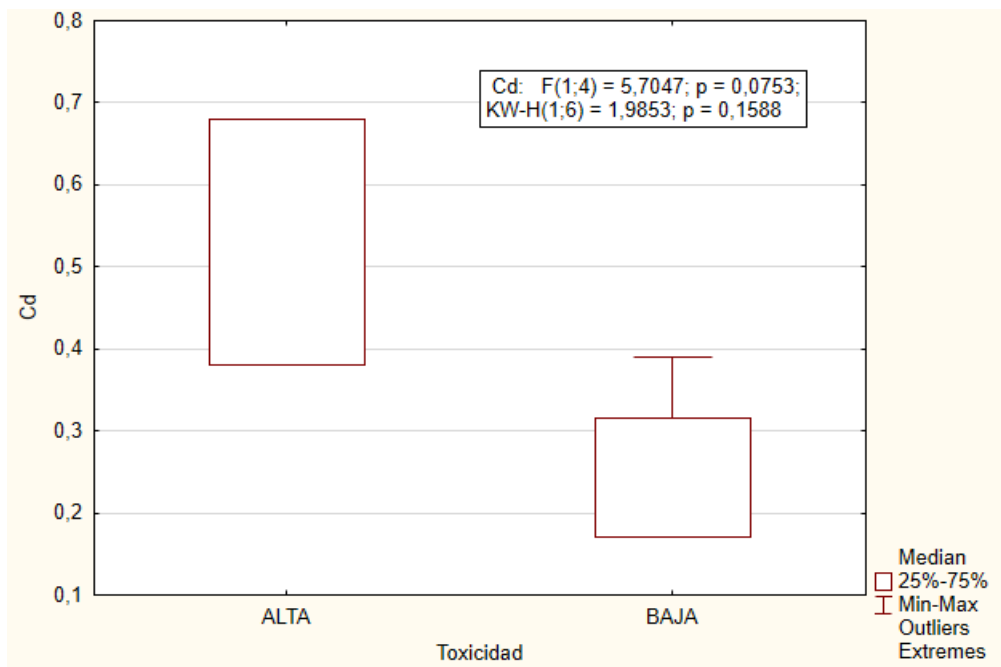
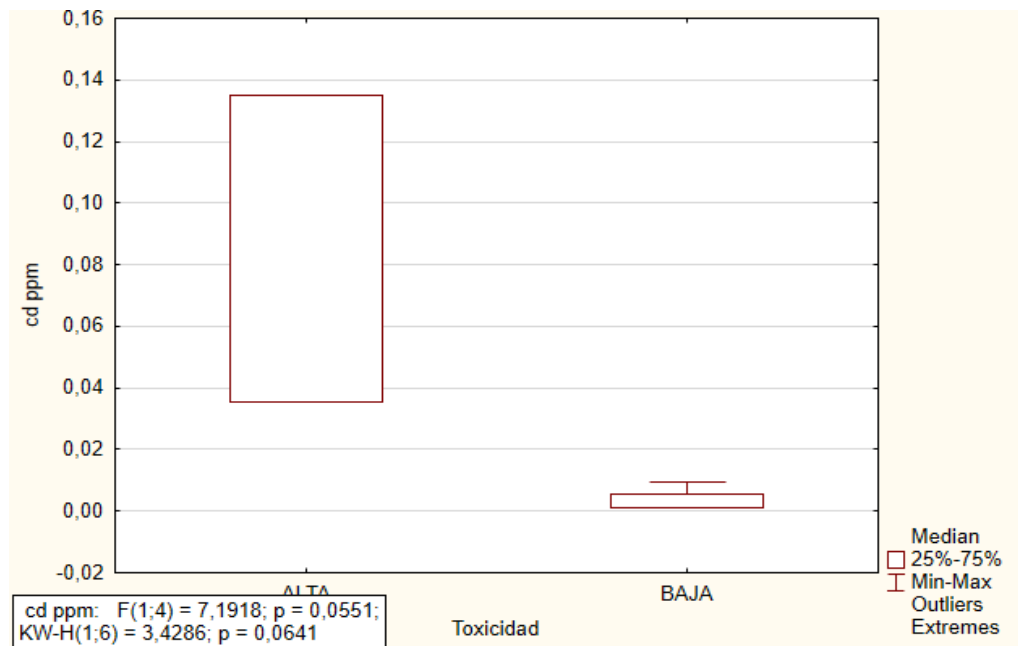


Figura 3.10-6. Concentración de Cd expresada en ppm, agrupada en alta y baja toxicidad

Se puede evidenciar en la figura 3.10-6 que para concentración de Cd total del sedimento, no muestra una diferencia significativa  $p > 0,005$ , sin embargo al graficar Cd extraído en el agua de bioensayo se obtiene un  $p < 0,05$ . Esto es explicado con la ESS donde Cd tuvo en F1 hasta un 15% de extracción de la concentración total del mismo en el sedimento de ES1.



**Figura 3.10-7. Concentración de Cd extraída expresada en ppm, agrupada en alta y baja toxicidad**

# **CAPÍTULO 4**



# CAPÍTULO 4

## 4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

### 4.1. Discusión

En esta sección se discutirán los resultados obtenidos de la caracterización físico-química, granulométrica y toxicológica realizada en sedimentos del Estero Salado y Manglares Churute. Cuyos valores fueron comparados con límites referenciales establecidos en normas internacionales como la norma canadiense de calidad de los sedimentos para la Protección de la Vida Acuática (CCME, 2013), debido a que en Ecuador no se ha encontrado normas ni valores referenciales para metales pesados en sedimentos. También se discutirán los resultados de la caracterización de agua in-situ y contenido de nutrientes de cada sitio de muestreo.

### 4.2. Caracterización del agua

El oxígeno disuelto es esencial para la supervivencia de los organismos acuáticos como peces, cangrejos, almejas y zooplancton. Según el TULSMA la concentración del mismo no debe ser menor a 5 mg/L ni tener un porcentaje de saturación menor a 60%. Esta norma es excedida en todos los sitios de muestreo siendo el valor más bajo registrado en el sitio ES2 con 2,61 mg/L y el más alto en CH3 con 3,10 mg/L.

La salinidad reportada para los sitios del estero salado y Manglares Churute tienen una gran diferencia. Esto se debe a que el primero es considerado un brazo de mar con su conexión a al río guayas por un ramal conocido como Estero Cobina, mientras que la reserva Churute es el resultado de la mezcla de aguas salinas y dulces aportadas por cuatro ríos: Taura, Churute, Cañar y Naranjal, provocando bajas salinidades en

el mismo. La salinidad más baja reportada fue en el sitio CH3 con 2,25 ppt y la más alta la registrada en ES2 con 8,46 ppt. Cabe recalcar que estos parámetros fueron medidos durante marea baja.

El pH también es un parámetro importante debido a que se relaciona con el equilibrio carbónico y la actividad de microorganismos (Gliessman, 2002). Para agua estuarina según el TULSMA el pH debe estar entre 6,5 y 9,5. Todos los valores de pH de los sitios de muestreo se encontraron dentro de este rango.

En relación al contenido de nutrientes cabe recalcar que al no existir una norma en Ecuador que regule los niveles de nutrientes en agua estuarina, los valores registrados fueron comparados con la Guía de gestión y calidad de aguas marítimas (AMWQC, 2008). Esta normativa registra un valor límite para nitritos de 0,055 mg/L y para fosfatos de 0,045 mg/L. Si se analizan los resultados de Nitritos de los diferentes sitios de muestreo se puede observar que los puntos evaluados en Churute cumplen con la normativa de Indonesia teniendo el valor máximo de 0,045 mg/L en CH1. En tanto los puntos tomados en estero salado superan la norma teniendo el valor mínimo de concentración de nitritos en ES3 con 0,085 mg/L y máximo en ES1 con 0,118. Este nutriente es inestable y su presencia suele indicar una contaminación de carácter fecal. (Catalán L. et al., 1990; Catalán A., 1981; Metcalf, 1998)

En el caso del contenido de fosfatos este se encuentra en pequeñas cantidades en el agua. Para los sitios de estudio todos incumplen con la norma, siendo la concentración reportada más alta en ES1 con 0,890 mg/L y la más baja en CH3 con 0,237 mg/L. En la actualidad las cantidades de fosfatos se deben a contaminaciones que pueden proceder de campos de cultivo con el uso de fertilizantes que posiblemente sea el caso de Churute. En el caso del estero salado los fosfatos podrían provenir en mayor medida por desagües urbanos con presencia de detergentes y materia fecal. (Calvachi y Ortiz, 2013)

Para el caso del amonio como radical es inocuo para la vida marina por tanto no existen rangos establecidos para este nutriente. Sin embargo, la presencia de este se origina por la descomposición de excrementos ya sean animales o humanos indicando un ambiente contaminado (Calvachi y Ortiz, 2013). En relación a las concentraciones de amonio registradas se puede observar una gran diferencia entre las concentraciones de Churute y las del estero salado, siendo la mínima en CH3 con 0,040 mg/L y la máxima reportada en ES1 con 2,690 mg/L.

#### **4.2. Caracterización del sedimento**

La movilidad de un metal depende no solo de su especiación química, si no de parámetros en el sedimento como son materia orgánica, minerales de arcilla, entre otros. (Aguilar, et al., 1999)

Según los resultados de granulometría los sitios del Estero salado poseen un mayor porcentaje de Arcilla, siendo ES1 el que tiene un mayor contenido de la misma (43%) seguido de ES2 con un 38%. En tanto en los Sitios de Churute el contenido de arcilla no supera el 3,16%, estando dominada por arena fina hasta en un 42% como es el caso de CH2. Cabe recalcar que los minerales de arcilla son buenos adsorbentes de metales, convirtiendo al sedimento del Estero salado en un potencial sumidero de los mismos. Sin embargo si existe abundante materia orgánica, esta puede competir por la adsorción metales. (Galán, 2000)

La materia orgánica presente en sistemas estuarinos por lo general tiene su origen en el material particulado que proviene de los ríos (Escobar, 2002). Bajos niveles de materia orgánica muchas veces están asociados a un gran aporte de material inorgánico o a una menor productividad primaria debido a una menor penetración de la luz producto de la presencia de material fino en suspensión (Escobar, 2002). Dentro de los resultados obtenidos de los sitios del Estero salado la estación ES1 es la

que tiene el menor contenido de materia orgánica (4,3231% en peso seco) y ES3 el mayor contenido (7,6366% en peso seco). En Manglares Churute se observa una menor cantidad de materia orgánica en CH1 con 3,1197% y la máxima en el sitio CH3 8,7788%, superando este último al máximo reportado en Salado.

#### **4.3. Metales en el sedimento**

La concentración de metales en los sedimentos fue evaluada con la norma canadiense de calidad de los sedimentos para la Protección de la Vida Acuática (CCME, 2013). Los niveles de Ni y Cu medidos en Estero Salado superan el PEL de la normativa canadiense, siendo el sitio ES3 el que presenta la mayor concentración de los metales (70,4 ppm en Ni y 172 ppm en Cu). En el caso del zinc el único registro que superó el PEL estuvo en el sitio ES3 con 346 ppm.

Con el fin de determinar si los metales presentes en los sitios de estudio tendrían una fuente antropogénica o geogénica se procedió al cálculo de los valores de EF y el Igeo. Con base en estos índices las estaciones ES1 Y ES3 presentaron una contaminación moderada de Zn, Cu y Pb. En ES1 de acuerdo a estos índices la contaminación fue mayoritariamente por plomo, a diferencia de ES2 que no presenta contaminación moderada de plomo, pero sí de Cu y Zn. Cabe acotar que el níquel a pesar de que sobrepasa la norma canadiense solo presenta valores de moderada contaminación en ES3. En Churute el panorama es diferente, ya que los únicos sitios que presentan una contaminación moderada son CH2 por zinc y CH3 por cobre.

Los índices indican que para las estaciones ES1 Y ES3 existe un enriquecimiento de origen antropogénico en Cu, Cd, Pb, Zn y As, a diferencia de ES2 que solo presenta un enriquecimiento en cobre y cadmio. Los sitios analizados en churute presentan un enriquecimiento

alto de arsénico en especial CH1 y CH3, siendo severo y moderadamente severo respectivamente.

En el caso de las estaciones de churute se destaca la presencia de arsénico, siendo esto preocupante ya que Manglares de Churute es una reserva ecológica. Una posible fuente de este arsénico pueden ser los fertilizantes utilizados en los cultivos alrededor de la zona ya que estos podrían contener arseniato y arsenito de calcio. El enriquecimiento de Cd, Pb, Cu y Zn en el Estero salado proviene posiblemente por depósito de aguas residuales en la zona. Cabe mencionar que los sitios de muestreo se encuentran en una zona urbanizada. También el cobre y el plomo pueden provenir de plaguicidas e industrias de elaboración de pigmentos y baterías.

Con el fin de determinar la concentración de Cd y Pb biodisponible se realizaron ESS, que pueden determinar el comportamiento de un metal como contaminante asociado a diferentes factores del sedimento y su movilidad y factibilidad para ser transferido a los organismos. Cada metal interactúa de manera diferente con las fases de sedimento establecido y sus características. (Galán, 2000)

En el caso del Cd las mayores concentraciones se encontraron en la fase 2 relacionada a carbonatos. Esto debido a que este metal tiende a quedar adsorbido por los carbonatos y su liberación se produce a pH 5. Los metales asociados a las fases F1 Y F2 son los más críticos para la vida acuática, debido a que la primera puede liberar metales por extracción mecánica y la segunda por condiciones de pH inferiores o iguales a 5. En el caso del Cd en la estación ES1 se obtuvo un 15% de extracción para F1 y en F2 un 41,6% volviéndolo un metal altamente biodisponible para este sitio. Cabe recalcar que las concentraciones extraídas en F1 de ES1, ES3 y CH1 superan el nivel de Cadmio permitido en aguas estuarinas según el TULSMA. Si analizamos la concentración extraída ligada a la materia orgánica (F4) en ES3,

podemos observar que esta es superior a la concentración extraída en F1. Esto puede responder al mayor contenido de materia orgánica presente en este sitio (7,6366%). El sitio de Churute CH1 presenta un menor contenido de cadmio ligado a F1 y F4. Esto puede explicarse por su reducido contenido de arcilla y bajo porcentaje de materia orgánica, dejando al cadmio retenido en óxidos e hidróxidos de Fe y Mn que corresponde a la F3.

El Pb se comporta de manera muy diferente al Cd en iguales características de los sedimentos de los sitios de estudio. En el Estero salado el sitio ES3 presento la mayor concentración extraída de plomo en F4 posiblemente por su contenido de materia orgánica superior a ES1. Esto podría ocurrir debido a que la materia orgánica reacciona con el Pb formando quelatos que son muy estables.

Las concentraciones extraídas en F1 de ES1 son menores a 1%, mientras que F3 fue la segunda fase con mayor concentración extraída de plomo. Siendo esto posible a que los óxidos e hidróxidos de Fe y Mn tienen una alta capacidad sorcitiva para metales divalentes, especialmente Cu y Pb. La concentración de metal extraída en F1 de ES1 a pesar que representa un mínimo porcentaje comparado con la totalidad de la concentración del metal en el sedimento, esta fase al ser liberada por movimientos mecánicos superaría la concentración permitida por el TULSMA en el agua estuarina.

Esta ESS evidencia que los metales a pesar de no encontrarse fuera de los límites de la norma canadiense antes mencionada, el conjunto de características del medio y su afinidad a estas puede volverlo más biodisponible respecto a su concentración total del mismo en el sedimento.

#### **4.4. Ensayos de toxicidad**

Los ensayos de toxicidad con *Artemia Salina* mostraron que ES1 y ES3 fueron los sitios de mayor toxicidad, ya que se obtuvo un menor porcentaje de eclosión. Los niveles de toxicidad en ES1 incluso llegaron a inhibir el desarrollo del cisto a nauplio. La concentración de cadmio en las extracciones de ES1 y ES2 con las que se realizó el bioensayo superó la concentración máxima recomendada por el TULSMA para aguas estuarinas (0,005 mg/L y los niveles de plomo estuvieron también por encima del límite permitido (0,001 mg/L)

A fin de explorar la influencia de los metales totales presentes sobre los niveles de toxicidad observados en los extractos de los sedimentos se realizó un análisis de componentes principales (PCA). Esta técnica exploratoria permite la reducción de parámetros que explican la variabilidad observada en un conjunto de observaciones (REFF). Este análisis, el cual retuvo un 84% de la variabilidad de las observaciones en el eje 1 y 2, mostró que el plomo, mercurio, el níquel y el cadmio eran los responsables de la mayor variabilidad observada entre los sitios de muestreo. Así, las seis estaciones fueron agrupadas en dos grandes grupos. El primero constituido por las estaciones de mayor toxicidad (ES1 y ES3), los cuales presentaron los niveles más elevados de Ni, Hg y Pb. Un segundo grupo constituido por las demás estaciones de estudio, en las cuales los niveles de estos metales fueron más bajas.

## **CAPÍTULO 5**

## **CAPÍTULO 5**



## 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1. Conclusiones

Los ensayos de toxicidad muestran que el porcentaje de eclosión de cistos de *Artemia salina* descapsulada refleja los niveles de toxicidad observados en los sedimentos estuarinos del área de estudio.

Los sedimentos que presentaron una elevada toxicidad (ES1 y ES3) se caracterizaron por tener una concentración total más elevada de plomo, mercurio y zinc en relación a los otros sedimentos ( $p < 0.05$ )

El porcentaje de eclosión mostró diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las pruebas realizadas con los sedimentos de elevada toxicidad y los de baja, el blanco, tanto a las 24 horas como a las 48 horas.

Las concentraciones de metales totales encontradas en los sedimentos superaron en algunos casos a los valores considerados seguros en la legislación canadiense (CCME, 2013), tales como el cobre ( $<108$  ppm) Y níquel ( $<42,8$  ppm) en Estero Salado.

Las extracciones secuenciales selectivas mostraron que el porcentaje de metal biodisponible depende de la afinidad del mismo con las diferentes fases de extracción del sedimento. Existiendo metales en un mismo sitio de muestreo como ES1 donde el Pb que presentó baja concentración en las extracciones de F1 (0,0279%) y F2 (3,4896%), mientras que el Cd presentó alta concentración en F1 (15,157%) y F2 (41,68%).

A pesar que la concentración total de cadmio en los sedimentos no mostró diferencias significativas entre los sitios de alta y baja toxicidad, la concentración obtenida en F1 y F2 lo convierte en un metal biodisponible con niveles potencialmente tóxicos de acuerdo a la literatura existente (TULSMA, 2015).

La movilidad de un metal depende no sólo de su especiación química, sino de una serie de parámetros del sedimento tales como pH, materia orgánica, granulometría, salinidad, carbonatos, óxidos e hidróxidos de Fe y Mn, entre otros.

Un estudio integral no está completo si no se realizan pruebas toxicológicas, debido a que la toxicidad de un sedimento es el resultado del conjunto de parámetros que reaccionan en el organismo.

Por tanto, es posible realizar una exploración con *Artemia salina* con el fin de determinar los sitios más tóxicos y poder caracterizar físico-químicamente los sedimentos que generan un mayor impacto ambiental. De esta manera se ahorran medios económicos y se enfoca directamente en tratar el problema determinando directamente cuales generan una mayor toxicidad.

## **5.2. Recomendaciones**

Utilizar el método de espectrofotometría de absorción atómica por Horno de grafito para detectar la concentración del agua del bioensayo, logrando una medición de concentraciones pequeñas.

Se recomienda pulverizar bien las fracciones de sedimento para tener una distribución más acertada.

Utilizar mascarilla para gases ácidos, guantes y gafas al realizar las extracciones de metales.

Utilizar la Sorbona en la extracción F4 para evitar la dispersión de vapores, agregando poco a poco el peróxido de hidrogeno debido a que provoca una reacción exotérmica.

Realizar análisis en el sedimento mediante difracción de rayos X con el fin de determinar las relaciones texturales entre los distintos minerales arcillosos y de esta manera ampliar el horizonte referente a la adsorción de metales.

Realizar las mediciones de fosfatos, nitritos y amonio el mismo día, a más tardar pasadas las 24 horas de la toma de muestra.

En lo posible realizar la extracción de F4 en recipientes de teflón con el fin de evitar interferencias. Siempre dejar enfriar las muestras antes de centrifugarlas.

## REFERENCIAS

- Abdullah, A.R. et al. (1997). Ecotoxicology of pesticides in the tropical paddy field ecosystem. *Environmental toxicology and chemistry*, (16):59-70
- Arencibia, G. y R. Tizol (1996): "Determinación de metales pesados en quistes de *Artemia*", en: *Rev. Cub. Invest. Pesq*, pp. 69-72, Centro de Investigaciones Pesqueras, La Habana.
- Aquilla R., Astorga Y., Jiménez F. (2005): "Influencia del uso del suelo en la calidad del agua en la subcuenca del río Jabona". Costa Rica.
- Bayen, S. (2012).: "Occurrence, bioavailability and toxic effects of trace metals and organic contaminants in mangrove ecosystems: a review". *Environ.* pp.84–101. Behera, B.C.
- Bodin, Thiaw, Morais. (2013): "Assessment of trace metal contamination in mangrove ecosystems from Senegal", West Africa. *Chemosphere* 90, 150–157.
- Hakanson L. (1980): "An ecological risk index for aquatic pollution control—A sedimentological approach. *Water Res*".
- Libralatoa et al., (2016): "A review of toxicity testing protocols and endpoints with *Artemia* spp". *Science Direct. Italia*, pp.1-6.
- Meyer, B. N. et al. (1982): "Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents", in: *Journal of Medicinal Plant Research*, (45): 31-34, USA.
- Mishra, R.R., Patra, J.K., Sarangi, K., Dutta, S.K., Thatoi, H.N. (2013): " Impact of heavy metals on bacterial communities from mangrove soils of the Mahanadi Delta", India.

- Monserate, L., Medina, J., Calle, P. (2011): “Estudio de Condiciones Físicas, Químicas y Biológicas en la Zona Intermareal de Dos Sectores del Estero Salado con Diferente Desarrollo Urbano”. Escuela Superior Politécnica del Litoral ESPOL.
- Rodríguez R.(2011). Estudio de la contaminación por metales pesados de la Cuenca del Llobregat. España, Universidad Politécnica de Catalunya.
- Sorgeloos, P.; C. R. Der Wielen y G. Persoone (1978): “El uso de nauplios de *Artemia* para pruebas de toxicidad, un análisis crítico”, *Ecotoxicología y Seguridad Ambiental*, 2(3-4): 249-255.
- Yang Z.F., Wang Y., Shen Z.Y., Niu J.F., Tang Z.W. (2009): “ Distribution and speciation of heavy metals in sediments from the mainstream, tributaries, and lakes of the Yangtze River catchment of Wuhan, China”. *J. Hazard. Mate.*
- Zulkifli, S.Z., Aziz, F.Z.A., Ajis, S.Z.M., Ismail, A. (2014): “Nauplii of brine shrimp (*Artemia salina*) as a potential toxicity testing organism for heavy metals contamination”. *Sources to Solution*. Springer, Singapore, pp. 233–237.

# GLOSARIO DE TERMINOS

## Adsorción

Operación unitaria mediante la cual un sólido retiene en su superficie sustancias denominadas adsorbatos. \_\_\_\_\_ 31, 37

## Agroindustrial

Derivado de la actividad agrícola o que se encuentra vinculado con ella. \_\_\_\_\_ 1

## Arcilla

Son partículas solidadas con un diámetro alrededor de 0.005 mm. Presenta plasticidad, resiste a la compresión cuando no contiene humedad \_\_\_\_\_ 19, 31

## Bioacumulación

Proceso de acumulación de una sustancia en el organismo \_\_\_\_\_ 1

## Carbón

Sustancia fósil, generalmente de color negro, resultante de la combustión incompleta de materia orgánica. \_\_\_\_\_ 1

## Conductividad

Es un parámetro que mide la capacidad de una sustancia para conducir energía eléctrica. \_\_\_\_\_ 5

## Eclosión

Acción que impide el crecimiento o determina la rotura de la envoltura de un huevo. XI, 13, 24, 25, 34, 35

## Estuario

Es una zona de transición en la que se unen aguas dulces y aguas saladas \_\_\_\_\_ X

## Humedad

Contenido de agua o cualquier sustancia líquida que se encuentra en el interior de un cuerpo. \_\_\_\_\_ 7

## Limo

Suelo que no tiene ninguna resistencia a la compresión por lo que no se la puede usar en sedimentación. Tiene un diámetro aproximado de 0.05 mm \_\_\_\_\_ X

## Manglar

Es un tipo de ecosistema que se encuentra en las zonas costeras o a orillas de los ríos. Son zonas de transición entre el ambiente acuático y el ambiente terrestre XII, 3, 5, 29, 31, 32

## Materia orgánica

Material orgánico biológico que está formada por células vivas y

puede llegar a descomponerse total o parcialmente por microorganismos. \_\_ 6, 7, 9, 10, 19, 30, 31, 33, 36

### **Metales pesados**

Elemento químico de la tabla periódica que presenta una densidad alta y es toxico desde bajas concentraciones. I, X, XI, XII, 29

### **Sedimento**

Sustancia sólida que queda depositada en el fondo debido a su mayor gravedad.\_ I, 3, 4, 6, 7, 8, 9,

11, 12, 13, 16, 19, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36

### **Terrígeno**

Que proviene de la tierra.

Sustancias que se encuentran asentadas y en mayores concentraciones en la tierra. \_\_\_\_15

### **Toxicidad**

Efecto destructivo que causan ciertas sustancias químicas o biológicas sobre los organismos vivos. \_I, XI, XII, 16, 26, 27, 34, 35, 36

## SIMBOLOGÍA

m/m	masa/masa
g	Gramos
kg	Kilogramo
Ton	Tonelada métrica
V	Volumen
L	Litros
mL	Mililitro
m	Metro
km	Kilometro
cm	Centímetro
mm	Milímetro
nm	Nanómetro
$\mu\text{m}$	Micrómetro
min	Minuto
N	Normal
M	Molar
Mg	Miligramo
m <sup>2</sup>	Metros cuadrados
cc o cm <sup>3</sup>	Centímetro cúbico
m <sup>3</sup>	Metro cúbico
mol	Moles
°C	Grados Celsius
ppm	Partes por millón
%	Porcentaje
r	Radio
h	Hora
mS	Milisiemens



# **ANEXOS**



## ANEXO B

### Registro de concentraciones de metales en sedimento (Taylor y Leman, 2001)

Element	Average sediment <sup>a</sup>	Average mud <sup>b</sup>	Average river particulate <sup>c</sup>	Loess <sup>d</sup>	Average Pelagic clay <sup>e</sup>	Deep sea carbonate <sup>f</sup>
Li (ppm)	21	30	25	30	57	5
Be (ppm)	2.2	3	—	2	2.6	—
B (ppm)	75	100	70	—	230	55
Na (wt.%)	1.25	0.89	0.71	1.4	4.0	0.2
Mg (wt.%)	1.85	1.4	1.2	0.68	2.1	0.4
Al (wt.%)	7.10	10.3	9.4	6.9	8.4	2.0
Si (wt.%)	30.0	29.9	28.9	35.7	25.0	3.2
P (ppm)	665	700	1150	—	1500	350
K (wt.%)	2.35	3.2	2.0	1.9	0.5	0.3
Ca (wt.%)	6.40	0.93	0.2	0.79	0.93	31.24
Sc (ppm)	14	16	18	8	19	2
Ti (wt.%)	0.45	0.60	0.56	0.41	0.46	0.08
V (ppm)	110	140	170	73	120	20
Cr (ppm)	74	100	100	44	90	11
Mn (ppm)	680	850	1050	560	670	1000
Fe (wt.%)	4.00	5.1	4.8	2.4	6.5	0.90
Co (ppm)	16	20	20	11	74	7
Ni (ppm)	40	60	90	20	230	30
Cu (ppm)	40	50	100	18	250	30
Zn (ppm)	65	85	350	60	200	35
Ga (ppm)	16	20	25	4	20	13
Ge (ppm)	1.5	2	—	—	2	0.2
Rb (ppm)	110	160	100	85	110	10
Sr (ppm)	385	200	150	192	18	2000
Y (ppm)	21	27	28	25	40	42
Zr (ppm)	210	210	—	375	150	20
Nb (ppm)	17	19	—	20	14	—
Mo (ppm)	—	1.0	3	—	27	—
Cd (ppb)	—	—	1000	—	300	—
Sn (ppm)	5	6	—	5	3.0	—
Cs (ppm)	4.5	6	6	4	6	0.4
Ba (ppm)	480	650	600	625	2300	190
La (ppm)	28.3	38.2	46	35.4	42	10
Ce (ppm)	58.9	79.6	88	78.6	80	—
Pr (ppm)	6.52	8.83	9.0	8.46	10	—
Nd (ppm)	24.9	33.9	33	33.9	41	—
Sm (ppm)	4.23	5.55	7.0	6.38	8.0	—
Eu (ppm)	0.86	1.08	1.5	1.18	1.8	—
Gd (ppm)	3.61	4.66	5.4	4.61	8.3	—
Tb (ppm)	0.60	0.774	0.89	0.81	1.3	—
Dy (ppm)	3.61	4.68	5.4	4.82	7.4	—
Ho (ppm)	0.76	0.991	1.1	1.01	1.5	—
Er (ppm)	2.19	2.85	3.1	2.85	4.1	—

## ANEXO C

### Promedio global de roca superficial en ppm (Martin y Meybeck,1979)

Sample location	Al	Fe	Ti	Mn	Zn	Cu	Cr	Ni	Pb
1	4.755	1.628	0.231	484	29	188	43	13	41.5
2	4.434	1.978	0.345	608	33	192.5	59.5	12	38.5
3	4.09	1.784	0.312	642	19	194.5	53	7	31
4	4.64	1.719	0.252	441	23	182	41.5	9	37.5
5	4.085	1.668	0.285	569	28	193.5	56.5	15	47
Std.Dev.	0.308	0.137	0.044	0.103	3.459	5.165	8.067	3.193	5.846
World surface rock average	6.93	3.59	0.38	720	129	32	97	49	20

## ANEXO D

### TULSMA, concentración de metales en aguas estuarinas

**TABLA 3: CRITERIOS DE CALIDAD ADMISIBLES PARA LA PRESERVACIÓN DE LA VIDA ACUÁTICA Y SILVESTRE EN AGUAS DULCES, MARINAS Y DE ESTUARIOS**

PARAMETROS	Expresados como	Unidad	Criterio de calidad	
			Aguadulce	Agua marina y de estuario
Aluminio <sup>1</sup>	Al	mg/l	0,1	1,5
Amoniaco Total <sup>1</sup>	NH3	mg/l	-	0,4
Arsénico	As	mg/l	0,05	0,05
Bario	Ba	mg/l	1,0	1,0
Berilio	Be	mg/l	0,1	1,5
Bifenilos Policlorados	Concentración de PCBs totales	Hg/l	1,0	1,0
Boro	B	mg/l	0,75	5,0
Cadmio	Cd	mg/l	0,001	0,005
Cianuros	CN	mg/l	0,01	0,01
Cinc	Zn	mg/l	0,03	0,015
Cloro residual total	Cl <sub>2</sub>	mg/l	0,01	0,01
Clorofenoles <sup>2</sup>		mg/l	0,05	0,05
Cobalto	Co	mg/l	0,2	0,2
Cobre	Cu	mg/l	0,005	0,005
Cromo total	Cr	mg/l	0,032	0,05
Estaño	Sn	mg/l		2,00
Fenoles monohídricos	Expresado como fenoles	mg/l	0,001	0,001
Aceites y grasas	Sustancias solubles en hexano	mg/l	0,3	0,3
Hidrocarburos Totales de Petróleo	TPH	mg/l	0,05	0,05
Hierro	Fe	mg/l	0,3	0,3
Manganeso	Mn	mg/l	0,1	0,1
Materia flotante de origen antrópico	visible		Ausencia	Ausencia
Mercurio	Hg	mg/l	0,0002	0,0001
Níquel	Ni	mg/l	0,025	0,1
Oxígeno Disuelto	OD	%de saturación	>80	>60
Piretroides	Concentración de piretroides totales	mg/l	0,05	0,05
Plaguicidas organoclorados totales	Organoclorados totales	M-g/l	10,0	10,0
Plaguicidas organofosforados totales	Organofosforados totales	Mg/l	10,0	10,0
Plata	Ag	mg/l	0,01	0,005
Plomo	Pb	mg/l	0,001	0,001
Potencial de Hidrógeno	pH	unidades de pH	6,5-9	6,5-9,5
Selenio	Se	mg/l	0,001	0,001
Tensoactivos	Sustancias activas al azul de metileno	mg/l	0,5	0,5
Nitritos	NO <sub>2</sub>	mg/l	0,2	
Nitratos	NO <sub>3</sub>	mg/l	13	200
DBO <sub>5</sub> <sup>3</sup>	DBO <sub>5</sub>	mg/l	-	
Sólidos Suspendidos Totales	SST	mg/l	max incremento de 10% de la condición natural	no aplica

<sup>1</sup> Aluminio: Si el pH es menor a 6,5 el criterio de calidad será 0,005 mg/l.

## ANEXO E

Quality Analysis ...



Innovative Technologies

Date Submitted: 10-Aug-17  
Invoice No.: A17-08500  
Invoice Date: 23-Aug-17  
Your Reference:

Aura Moreno Noguera  
Villa Real 1-4  
Guayaquil  
090512  
Equador

ATTN: Aura Moreno Noguera

### CERTIFICATE OF ANALYSIS

6 Stream Sediment samples were submitted for analysis.

The following analytical package(s) were requested:

Code UT-1-0.5g Aqua Regia ICP/MS

REPORT A17-08500

This report may be reproduced without our consent. If only selected portions of the report are reproduced, permission must be obtained. If no instructions were given at time of sample submittal regarding excess material, it will be discarded within 90 days of this report. Our liability is limited solely to the analytical cost of these analyses. Test results are representative only of material submitted for analysis.

#### Notes:

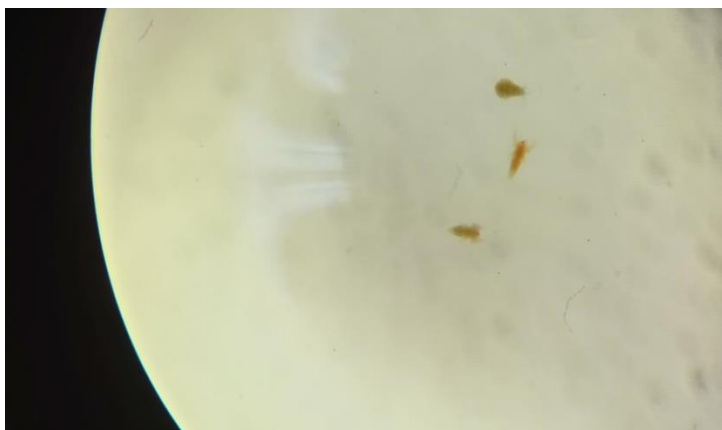
Assays are recommended for values above the upper limit. The Au from AR-MS is only semi-quantitative. For accurate Au data, fire assay is recommended.

CERTIFIED BY:

Emmanuel Esame, Ph.D.  
Quality Control

ACTIVATION LABORATORIES LTD.  
41 Biltm Street, Ancaster, Ontario, Canada, L9G 4V5  
TELEPHONE +905 648-9611 or +1.888.228.5227 FAX +1.905.648.9613  
E-MAIL Ancaster@actlabs.com ACTLABS GROUP WEBSITE www.actlabs.com

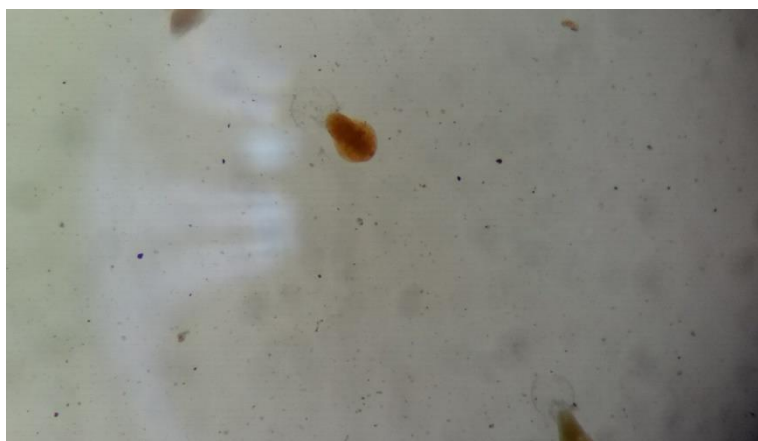
## ANEXO F



**Estadio F1 en blanco a las 18h**



**Estadio E1 en muestra ES1 a las 18h**



**Estadio E2 en muestra ES3 a las 18h**