



PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
SEDE ESMERALDAS



FACULTAD DE GESTIÓN AMBIENTAL

ESCUELA DE INGENIERÍA EN GESTIÓN AMBIENTAL

TESIS DE GRADO:

**CRITERIOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LÍMITES
PERMISIBLES DE MERCURIO EN PECES DE AGUA DULCE DEL
NORTE DE LA PROVINCIA DE ESMERALDAS.**

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO EN GESTIÓN AMBIENTAL

AUTOR:

ÁNGEL ISAAC MOSQUERA ROBINZÓN

ASESOR:

BLGO. EDUARDO REBOLLEDO

ESMERALDAS - 2014

Trabajo de tesis aprobado luego de haber dado cumplimiento a los requisitos exigidos por el reglamento de Grado de la PUCESE previo a la obtención del título de INGENIERÍA EN GESTIÓN AMBIENTAL.

Presidente Tribunal de Graduación

Lector 1

Lector 2

Director de la Escuela de Gestión Ambiental

Director de Tesis

Esmeraldas,.....de..... de 2014

AUTORÍA

Yo Ángel Isaac Mosquera Robinzón, declaro que la presente investigación enmarcada en el trabajo de tesis es absolutamente original, auténtica y personal.

En virtud que el contenido de ésta investigación es de exclusiva responsabilidad legal y académica del autor y de la PUCESE.

Ángel Isaac Mosquera Robinzón

C.I. 080325809-4

ÍNDICE

AUTORÍA	iii
LISTA DE FOTOGRAFÍAS Y FIGURAS	vi
LISTA DE TABLAS	viii
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Peligrosidad del mercurio	1
1.2. Uso del mercurio en la extracción artesanal del oro	2
1.3. Efecto del mercurio sobre los peces y el uso de peces como bioindicadores	4
1.4. Efecto del mercurio sobre las personas	7
1.5. Objetivos	9
1.6. Hipótesis	9
2. MATERIALES Y MÉTODOS	10
2.1. Determinación de la LC ₅₀ para mercurio en <i>Astyanax ruberrimus</i>	10
2.1.1. Instalación de equipos	10
2.1.2. Selección y aclimatación de especie	12
2.1.3. Estimación del volumen del reactivo	17
2.1.4. Análisis estadístico	20
2.1.5. Tratamiento de agua utilizada	21
2.2. Consumo de pescado en el norte de la provincia	22
2.3. Extrapolación de criterios internacionales	23
2.3.1. Exposición de la población del norte de la provincia de Esmeraldas al contaminante por el consumo de pescado	23

2.3.2. Riesgo potencial por exposición al mercurio en el consumo de pescado	24
2.3.3. Determinación del nivel de mercurio permisible en tejidos de peces para consumo humano	24
3. RESULTADOS	26
3.1. Determinación de la LC ₅₀	26
3.2. Consumo de pescado en el norte de la provincia	29
3.3.Extrapolación de criterios internacionales	34
3.3.1. Exposición de la población al contaminante por consumo de pescado	34
3.3.2. Riesgo potencial por exposición al mercurio en el consumo de pescado	36
3.3.3. Determinación del nivel de mercurio permisible en tejidos de peces para consumo humano	38
4. DISCUSIÓN	39
5. CONCLUSIONES	43
6. RECOMENDACIONES	44
BIBLIOGRAFÍA	45
ANEXOS	52

LISTAS DE FOTOGRAFÍAS Y FIGURAS

Fotografía #1: Peceras distribuidas en repisas metálicas	10
Fotografía #2: Termostatos para acuarios	11
Fotografía #3: Aireadores al lado izquierdo y piedras difusoras al lado derecho	11
Fotografía #4: Guaña (<i>Chaetostoma marginatum</i>)	12
Fotografía #5: Chala (<i>Astyanax ruberrimus</i>)	12
Fotografía #6: Estero Sabalera	13
Fotografía #7: Método de captura de Chalas	14
Fotografía #8: Sistema de circulación de agua	15
Fotografía #9: Mercurio estándar utilizado en la prueba de toxicidad	18
Fotografía #10: Medición de la concentración de mercurio a aplicarse	19
Fotografía #11: Aplicación del contaminante en las peceras	19
Fotografía #12: Persona de la comunidad de Wimbí encuestada	23
Figura #1: Número de individuos muertos por horas de prueba	28
Figura #2: Número de individuos muertos por días de prueba	28
Figura #3: Frecuencia de consumo de pescado	29
Figura #4: Establecimientos donde se obtiene el pescado de consumo	30
Figura #5: Especies de pescados que prefiere consumir	31
Figura #6: Actividades que contaminan el río	32

Figura #7: Enfermedades sufridas por la población encuestada el último año	33
Figura #8: Exposición de la población en función del promedio de concentraciones de mercurio por especies	34
Figura #9: Exposición de la población en función de las máximas concentraciones de mercurio por especies	35
Figura #10: Riesgo por el consumo de pescado en función del promedio de concentración de mercurio	36
Figura #11: Riesgo por el consumo de pescado en función de las máximas concentraciones de mercurio	37

LISTAS DE TABLAS

TABLA I: Uniformidad de la muestra	16
TABLA II: Alimento diario proporcionado a los peces	16
TABLA III: Concentración de mercurio en las peceras	18
TABLA IV: Volumen de mercurio utilizado en cada pecera	19
TABLA V: Intervalos de monitoreo	20
TABLA VI: Fechas y materiales utilizados para el tratamiento del agua empleada	21
TABLA VII: Parámetros <i>in-situ</i> registrados en el muestreo	26
TABLA VIII: Índice de diversidad del estero Sabalera	26
TABLA IX: Mortalidad presente durante los 4 días de prueba	27
TABLA X: Promedio de pescado que compran o pescan para consumo (lbs/semana)	30
TABLA XI: Consideran que las autoridades se preocupan o no lo hacen por la calidad de pescado que consume y ¿por qué?	33
TABLA XII: Exposición de la población al mercurio por el consumo de pescado	34
TABLA XIII: Exposición al mercurio por el consumo de pescado	35
TABLA XIV: Riesgo potencial en el consumo de pescado con el promedio de concentraciones de mercurio	36
TABLA XV: Riesgo potencial en consumo de pescado con las máximas concentraciones de mercurio	37

TABLA XVI: Límites permisibles de mercurio en carne de pescado	38
TABLA XVII: Valores de LC_{50} cada 24 horas	40

CRITERIOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LÍMITES PERMISIBLES DE MERCURIO EN PECES DE AGUA DULCE DEL NORTE DE LA PROVINCIA DE ESMERALDAS.

RESUMEN

La actividad minera artesanal realizada en el norte de la provincia de Esmeraldas, utiliza en su proceso de obtención de oro un producto llamado Azogue que es el mercurio metálico, metal pesado sumamente tóxico siendo prohibida la utilización de este compuesto en nuestro país. El presente estudio se realizó con la finalidad de determinar la resistencia de los peces al mercurio en agua y el límite permisible de este metal en carne de pescado.

Para determinar la resistencia en agua se realizó una prueba de toxicidad aguda llamada LC₅₀ (Lethal Concentration 50) en un pez local denominado “Chala” (*Astyanax ruberrimus*), este ensayo se aplicó a una muestra de 110 peces distribuidos en 11 peceras, que pasaron por un proceso de aclimatación de 14 días y se aplicó el reactivo durante 96 horas. La variable registrada fue la mortalidad presente en las peceras durante este tiempo, los datos obtenidos se analizaron con el método estadístico de regresión Probit ejecutado en el programa estadístico SPSS y sus resultados fueron una LC₅₀ de 0,440 mg/l de mercurio.

El límite permisible de mercurio en tejido de peces, se calculó aplicando una fórmula de libre acceso del EPA¹ donde se relaciona la dosis de referencia del elemento, el peso promedio de un individuo y el consumo diario de pescado del país. Esta relación arrojó un resultado de 0,36 mg/Kg de Hg en carne de pescado, este límite debería ser incorporado a la legislación con la finalidad de evitar el riesgo por consumir pescado.

¹ Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos

CRITERIA TO DETERMINATE MAXIMUM VALUES ALLOWED OF MERCURY ON RIVER FISH FROM THE NORTH OF THE PROVINCE OF ESMERALDAS.

ABSTRACT

The artisanal mining activity in the north of the province of Esmeraldas, uses in its process of obtaining gold a product called Azogue, which is metallic mercury, a heavy metal highly toxic which is forbidden in our country. This study was done in order to determinate the resistance of fish to mercury in water and the maximum value allowed of this metal on fish meat.

In order to determinate the resistance in water an acute toxicity test was made called LC_{50} , on a fish called “Chala” (*Astyanax ruberrimus*), the experiment was applied to a sample of 110 fish distributed in 11 tanks, they went through an acclimation process for 14 days and the reagent was applied for 96 hours. The variable registered was the death in the tanks during this time, the data obtained was analyzed using the statistical regression method Probit, executed in the statistical program SPSS and the results were LC_{50} de 0,440 mg/l of mercury.

The maximum value allowed of mercury on fish tissues, was calculated using a free access formula from EPA where the element reference dose is in relation to the average weight of individual and daily fish consumption in the country. The result was 0,36 mg/Kg of Hg on fish meat, this maximum value should be incorporated in legislation in order to avoid the risk by eating fish.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Peligrosidad del mercurio

Según Angenault (1998), el mercurio es un elemento de número atómico 80, densidad de $15,53\text{g/cm}^3$; es el único metal líquido a temperatura ambiente; este metal y sus derivados son venenos fuertes.

El mercurio es un metal pesado, venenoso a muy bajas concentraciones, y no puede ser degradado o destruido. Este metal es considerado como uno de los tóxicos más peligrosos que se conoce: la cantidad de mercurio contenida en un termómetro casero es suficiente para superar los niveles permisibles de mercurio en aire dentro de una casa (Brack *et al.*, 2011).

Torres (2010), el mercurio se encuentra en el sexto lugar en la lista de compuestos más peligrosos; esto depende de su elevada toxicidad y su facilidad para ser asimilado y acumulado por los seres vivos, hasta llegar al ser humano a quien puede causar graves problemas de salud y, por ende, mermar la funcionalidad de las personas en la sociedad.

El mercurio a lo largo de la naturaleza se divide en 3 grandes grupos: el mercurio metálico, las sales inorgánicas de mercurio y los compuestos orgánicos del mercurio. Cada uno de estos grupos es captado de distintas formas por el organismo (Gutiérrez, 2014).

La absorción del mercurio metálico se efectúa principalmente a través de la inhalación de sus vapores. En forma líquida es absorbido por vía dérmica pero no se conoce la proporción en que es absorbido (Gutiérrez, 2004).

Las principales vías de entrada de los compuestos inorgánicos de mercurio (sales mercuriales) son los pulmones (atomización de las sales de mercurio) y el tracto gastrointestinal. En este último caso, la absorción suele ser resultado de la ingestión accidental o voluntaria. Se calcula que entre un 2 y un 10 % de las sales mercuriales ingeridas se absorbe a través del tracto gastrointestinal (Oficina Internacional de Trabajo, 1998).

El mercurio utilizado en procesos industriales al ser descargado a los cuerpos de agua cambia de forma por la acción del metabolismo microbiano y se convierte en metilmercurio que es un compuesto orgánico del mercurio (Oficina Internacional del Trabajo, 1998)

1.2. Uso del mercurio en la extracción artesanal de oro

Según el Suplemento del Registro Oficial N° 67 publicado en Quito (2009) en el Reglamento del Régimen Especial de Pequeña Minería y Minería del Ecuador el artículo 18 define minería artesanal como aquella que se realiza mediante el trabajo individual, familiar o asociativo de quien efectúa labores mineras en áreas libres, única y exclusivamente como medio de sustento.

En el norte de Esmeraldas se desarrolla la minería aurífera la que es considerada oficialmente como “artesanal”, esta minería aurífera artesanal no cumple con las normativas ambientales vigentes, debido que a diario se realizan constantes descargas de aguas saturadas de metales pesados hacia los ríos que se encuentran en la cuenca del sistema hidrográfico Santiago-Cayapas.

Los yacimientos aluviales mineros son característicos del norte de la provincia de Esmeraldas, la organización denominada Estudios Mineros del Perú S.A.C (2006) sostiene que el yacimiento aluvial está formado por el transporte de gravas, limo y minerales pesados de diferentes formas y tamaños, que están depositados en las arenas o lechos de los ríos. Por lo general son de oro, tungsteno y titanio.

Este modo de practicar minería aurífera ha generado considerables impactos ambientales y sociales causando alteraciones en el recurso agua, en lugares donde se asentaron poblaciones y para las cuales el río comprende el centro social, cultural, económico y ambiental (PRAS²-CID-PUCESE³, 2011).

La extracción aurífera consiste básicamente en la remoción y lavado de grandes volúmenes de tierra mediante maquinaria pesada, para luego iniciar los procesos de trituración,

²Programa de Remediación Ambiental y Social del Ministerio del Ambiente del Ecuador

³Centro de Investigación y Desarrollo de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Esmeraldas

molienda y amalgamación, durante estos procesos se vierten al medio ambiente mercurio y cianuro para la recuperación de pequeños fragmentos de oro (PRAS-CID-PUCESE, 2011).

Este proceso viola el reglamento del Régimen Especial de Pequeña Minería y Minería Artesanal, el cual en su artículo 37 señala: Sin perjuicio de la aplicación de la normativa minero ambiental, los titulares de derechos mineros bajo el régimen especial de pequeña minería y minería artesanal, deberán adoptar en sus operaciones procedimientos mediante los cuales se evite el uso de mercurio. En todo caso se deberán utilizar sistemas de recuperación de ese metal mediante el empleo de destiladores de retorta, sistemas similares o procesos químicos controlados que coadyuven al manejo adecuado de esta sustancia, evitando descargas del mismo, conforme las normas del Reglamento Ambiental para Actividades Mineras.

En el proceso metalúrgico de separación del oro, se exponen al mercurio quienes realizan el refinado y amalgamación; estos trabajadores muchas veces adolescentes y mujeres, manipulan el mercurio sin guantes ni otra protección, contaminándose a través de la piel. El relave que queda luego de este proceso, es almacenado y al secar se esparce en el ambiente siendo respiradas las partículas de mercurio por toda la población (Instituto Salud y Trabajo, 2002).

En los cantones de San Lorenzo y Eloy Alfaro se han descrito 200 frentes mineros, ninguno de estos cuenta con un sistema de tratamiento de desechos tóxicos, ni poseen licencias ambientales emitidas por la Dirección provincial del Ambiente (PRAS-CID-PUCESE, 2011).

Los lugares más afectados por la minería aurífera en el norte de Esmeraldas son: Urbina, Maldonado, San Francisco del Bogotá, Ricaurte, Concepción, San Agustín, La Boca, Borbón, San Javier de Cachaví, Selva Alegre, Zapallito (PRAS-CID-PUCESE, 2011). En estos poblados como en todo el país los pensamientos acerca de la actividad minera se encuentran divididos, por un lado hay pensamientos ecologistas que apasionadamente critican esta actividad y se oponen rotundamente a su accionar, al igual que los moradores de ciertas comunidades que están siendo afectadas por el deterioro que esta actividad

genera a sus fuentes de agua. Por otra parte están las comunidades beneficiadas por la minería, cuyo gran interés es la obtención del oro para su lucro.

El Gobierno también forma parte de este conflicto, aunque promueve en papel una política donde se respetan los derechos de la naturaleza y el buen vivir, no puede descuidar el desarrollo económico, que es en sí, la base para sostener a la misma sociedad.

SENAGUA⁴ (2010), realizó un monitoreo en la cuenca del río Cayapas, en donde, los 7 puntos que fueron monitoreados no presentaron contenido de mercurio en sus aguas. Otro estudio realizado por SENAGUA, MAE⁵ y PUCESE (2011), nos dice que el contenido de mercurio presente en 9 de los 14 puntos monitoreados sobrepasó el límite permisible. Y en el estudio realizado por el PRAS-CID-PUCESE (2012), no se detectó mercurio en muestras de agua de 22 puntos monitoreados.

El estado ecuatoriano, además, de los monitoreos de calidad del agua de los ríos del norte de la provincia de Esmeraldas, interviene con la Empresa Nacional Minera (ENAMI-EP), que propone un nuevo modelo de minería para esta zona que consiste en la remoción de tierra con maquinaria, que es tamizada con una ZL mejorada, una planta de lavado Alaska 80 que permite que el oro sea recuperado por tamizado y no se necesite usar mercurio que es uno de los problemas de la minería (ENAMI-EP, 2012). Modelo que sólo es aplicado por los frentes mineros de ENAMI-EP, pero que la actividad minera ilegal presente no la toma en consideración.

1.3.Efecto del mercurio sobre los peces y el uso de peces como bioindicadores

Almaguer (2011), sostiene que los metales pesados presentan particular movilidad en los ecosistemas acuáticos naturales y toxicidad en las formas superiores de vida. Es por esta particularidad que a los iones de metales pesados se les ha catalogado como los contaminantes inorgánicos más importantes en el ambiente.

⁴Secretaría Nacional del Agua

⁵Ministerio del Ambiente del Ecuador

Las especies acuáticas son propensas a acumular metales pesados a concentraciones superiores a las del medio natural, a lo largo de la cadena alimenticia, desde los primeros consumidores se van acumulando metales pesados que son ingeridos finalmente por el ser humano.

De acuerdo a Mancera y Álvarez (2006), el mercurio se concentra en sedimentos en la base de los cuerpos de agua, donde los microorganismos como bacterias que viven allí pueden convertirlo a la forma orgánica del metilmercurio, que es sacado por los gusanos y otros animales pequeños que habitan en los sedimentos. Este compuesto se acumula en los peces que ingieren estos microorganismos y en los peces más grandes que se alimentan de los más pequeños.

El metilmercurio tiene la capacidad de acumularse en organismos (bioacumulación) y concentrarse en las cadenas alimenticias a medida que ascienden de nivel trófico (biomagnificación). Este compuesto es la forma que causa mayores efectos perjudiciales. Casi todo el mercurio que se encuentra en los peces es metilmercurio (PNUMA⁶, 2005).

La bioacumulación se entiende como el incremento en la concentración de un producto químico en un organismo biológico a través del tiempo, comparado con las concentraciones químicas en el ambiente. Los compuestos se acumulan en los seres vivos y son almacenados más rápidamente de lo que pueden metabolizar (Zorrilla, 2011).

Capó (2007), sostiene que las sustancias tóxicas pueden persistir, causando un daño al ambiente, que se lo denomina biomagnificación, y que es un proceso similar a la síntesis letal que se produce en el organismo vivo.

Con esto se puede considerar a la bioacumulación como un proceso que afecta a los individuos mientras que la biomagnificación afecta a todos los elementos de la cadena trófica, especialmente a los consumidores finales que captan toda la concentración de estos contaminantes.

⁶Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente

Posada y Arroyave (2006), sostienen que en los ambientes contaminados por metales pesados se altera la capacidad de supervivencia de los organismos, lo que afecta la dinámica poblacional de las especies y, por tanto, la estructura y función del ecosistema.

Es importante mencionar que la comunidad de peces posee varios atributos que la hacen útil como indicador de la integridad biótica: son un componente altamente visible y sensible de los ecosistemas de agua dulce, los peces responden previsiblemente a cambios en los factores abióticos, como la calidad del agua y del hábitat, y a los bióticos, como la explotación del hombre y la adición de especies (Pérez *et al.*, 2007).

Uno de los métodos empleados para establecer parámetros de contaminación corresponden a las pruebas de toxicidad, que se deberían incluir para identificar aquellas descargas que aportan sustancias tóxicas al ambiente, y que no son detectadas por la falta de control, ya que con la reacción de los organismos de prueba se pueden identificar las descargas que alteran y afectan la calidad del agua de los efluentes, de tal manera que a la industria responsable de las descargas se le adicione un nivel permisible de toxicidad, para disminuir el impacto de los contaminantes en los efluentes y de esta forma proteger la salud del ecosistema (Saldaña *et al.*, 2002)

Los ensayos de toxicidad tienen como objetivo recopilar datos de interés que logren la protección de los organismos acuáticos que forman el recurso biológico de todo un ecosistema o de una especie en particular, de la contaminación provocada por las sustancias peligrosas vertidas al ambiente por el ser humano (Peña *et al.*, 2001) Los mismos autores, sostienen que en el caso de las pruebas de toxicidad aguda, la respuesta que se mide es la muerte de los individuos en estudio. La mayoría de los estudios de toxicidad aguda en peces reportan los resultados calculando la LC₅₀, que es la concentración que resulta letal para el 50% de los peces expuestos durante un período de tiempo especificado.

El Libro VI del Texto Unificado de Legislación Ambiental y Secundaria (TULAS) en su Anexo 1 establece límites admisibles de contaminantes para la preservación de la flora y fauna en aguas dulces, frías o cálidas, y en aguas marinas y de estuario (Tabla III), donde se establece un valor de 0,0002 mg/l de mercurio; y también establece límites de descarga de aguas industriales a un cuerpo de agua dulce (Tabla XII) con un valor de 0.005 mg/l de

mercurio. Estas cifras han sido establecidas para regular el nivel de este compuesto en el agua, tomando en cuenta al ecosistema como un medio donde todas sus partes presentan la misma sensibilidad y resistencia ante un agente externo.

La normativa nacional es muy estricta ante la presencia de mercurio en el agua, el PRAS-CID-PUCESE (2011), sostiene que en el proceso de obtención de oro se vierte este metal al ambiente, estudios de SENAGUA-MAE-PUCESE (2011), registraron mercurio en las aguas de los ríos del norte de la provincia donde se practica minería artesanal; pero en estos ríos donde se encontró mercurio hay presencia de peces. De aquí nace la interrogante de cuál es el rango de exposición al mercurio que soportan los peces y si el límite permisible descrito en nuestro país es alto o bajo.

1.4.Efecto del mercurio sobre las personas

En el ser humano, de acuerdo con Valle y Lucas (2000), el tipo de síntomas asociados a una intoxicación con mercurio, dependen si es como elemento o algún derivado. El mercurio inorgánico se absorbe por inhalación o por contacto. El cuerpo tiende a acumular mercurio en pelo, riñón y timo⁷.

El Programa Nacional de Riesgos Químicos de Argentina (2008), sostiene que las personas se exponen a este metal principalmente a partir de accidentes ocasionados con aparatos o instrumentos que contienen mercurio metálico y lo liberan al medio (desde donde emite vapores a una temperatura ambiente) o a partir de la ingesta de alimentos contaminados con compuestos orgánicos de mercurio, especialmente pescados y mariscos.

Una exposición prolongada pero en proporciones pequeñas al mercurio se puede considerar como crónica, mientras que una manifestación corta pero en cantidades considerables se considera como aguda.

⁷El timo es un órgano pequeño ubicado por debajo del esternón. Antes del nacimiento y en la infancia, el timo ayuda a producir un tipo de glóbulos blancos. Estas células ayudan a proteger al organismo contra las infecciones.

La exposición aguda y crónica al mercurio está considerada como una amenaza potencial para la salud de la comunidad. La intoxicación por este metal puede ocurrir como resultado de riesgos laborales (Sarıkaya *et al.*, 2010).

La exposición aguda ocasionada por la inhalación de mercurio elemental puede acarrear problemas pulmonares. Los primeros síntomas, tales como fiebre, escalofríos, dificultad para respirar, sabor metálico en la boca, se puede confundir con la fiebre de los humos metálicos (Broussard *et al.*, 2002).

De acuerdo con Lourie (2003) los niños y fetos en desarrollo tienen un mayor riesgo de exposición al metilmercurio presentándose un mayor efecto crónico en este grupo de la población sobre todo se una familia consume regularmente pescado que contienen altos niveles de este contaminante. Los efectos en la salud de este tóxico ocasionan daños neurológicos, al sistema reproductivo, problemas en la conducta y dificultades de aprendizaje.

La Organización Panamericana de la Salud (OPS) menciona que el Comité Mixto de Expertos en Aditivos Alimentarios FAO⁸/OMS⁹ estableció una ingesta semanal tolerable provisional (ISTP) para el mercurio de 5 µg¹⁰/kg de peso corporal, y para metilmercurio de 1,6 µg/kg de peso corporal (Lemos *et al.*, 2011).

El Reglamento a la Ley de Pesca y Desarrollo Pesquero publicado en el Registro Oficial N° 690 en el 2002, en su artículo 24 nos dice que: El Instituto Ecuatoriano de Normalización, en coordinación con el Instituto Nacional de Pesca, determinará y publicará los requisitos que deben reunir los productos pesqueros y los procedimientos que deberán seguir las empresas para obtener la certificación de calidad y aptitud de tales productos para el consumo humano.

Sin embargo en nuestro país no existe ningún tipo de control para el consumo local de los recursos pesqueros, situación alarmante en zonas rurales como las del norte de Esmeraldas,

⁸ Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

⁹ Organización Mundial de la Salud

¹⁰ Microgramo es la millonésima parte de un gramo (10⁻⁶ g)

que obtienen peces directamente de los ríos para su consumo y que están siendo afectados por la minería aurífera como se mencionó anteriormente.

El PRAS-CID-PUCESE (2012), realizó un estudio donde se monitoreó la calidad de los ríos del norte de la provincia de Esmeraldas analizando el contenido de metales pesados en peces, en algunos se detectó alto contenido de mercurio en sus tejidos que al ser comparados con la legislación internacional sobrepasan los límites permisibles. De aquí surge la interrogante de saber el riesgo que tiene la población en caso de consumir estos peces y determinar la necesidad o no de establecer límites permisibles para mercurio en carne de pescado.

1.5.Objetivos:

1.5.1. General

Establecer criterios para la determinación de límites permisibles de mercurio en peces de ríos del norte de Esmeraldas.

1.5.2. Específicos

- Analizar mediante LC_{50} la tolerancia al mercurio de la especie *Astyanax ruberrimus* (Chala).
- Determinar el consumo de las principales especies de peces de agua dulce en poblaciones del norte de Esmeraldas.
- Extrapolar criterios internacionales para establecer niveles máximos permitidos de mercurio en tejidos de peces.

1.6.Hipótesis

La aplicación de la LC_{50} serviría para determinar la resistencia de la chala al mercurio y con los criterios internacionales se podría establecer el límite permisible de mercurio en carne de pescado.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación se desarrolló en el laboratorio de Gestión Ambiental de PUCESE desde octubre del 2012 hasta junio del 2013 y los métodos empleados fueron los siguientes:

2.1. Determinación de LC_{50} para mercurio en *Astyanax ruberrimus*.

2.1.1. Instalación de equipos.

Para la realización del ensayo de LC_{50} se instalaron los siguientes equipos y materiales:

Instalación de 11 peceras de vidrio de 80x40x40 cm con una capacidad de 128 L con el fin de mantener los organismos de prueba. Las cuáles se colocaron en repisas metálicas como se observa en la fotografía#1.



Fotografía #1: Peceras distribuidas en repisas metálicas

A cada pecera se le conectó un termostato marca HDOM (fotografía #2) para mantener una temperatura estable de 25°C, durante este estudio se adhirieron al vidrio de las peceras.



Fotografía #2: Termostatos para acuarios

Se conectaron 7 aireadores y se distribuyeron 14 piedras difusoras (fotografía #3) para mantener un nivel similar de oxígeno disuelto en el agua de las peceras dentro de un rango aceptable para los organismos y distribuido uniformemente.



Fotografía #3: Aireadores al lado izquierdo y piedras difusoras al lado derecho

También se compró un tanque plástico de 500 L, cilíndrico cónico, para transportar las especies de prueba desde un curso de agua libre de minería hacia el laboratorio de la universidad. Se empleó una bomba de achique sumergible con el fin de recircular el agua durante el transporte de los peces, para colocar agua en las peceras y extraer el agua usada en la limpieza de las peceras.

2.1.2. Selección y aclimatación de la especie.

La primera especie que se seleccionó fue *Chaetostoma marginatum* (fotografía #4) conocida como Guaña que en el estudio realizado por el PRAS-CID-PUCESE (2012) se determinó que es una especie abundante y sencilla de capturar. Los peces capturados fueron medidos y pesados (anexo #1). Una vez en el laboratorio se sometieron a un proceso de aclimatación, sin embargo los organismos de esta especie seleccionada no se adaptaron al cautiverio debido a que rechazaron el alimento proporcionado.



Fotografía #4: Guaña (*Chaetostoma marginatum*)

Por lo cual se decidió seleccionar otra especie *Astyanax ruberrimus* comúnmente conocida como Chala (ver fotografía #5).



Fotografía #5: Chala (*Astyanax ruberrimus*)

Esta especie es conocida en Colombia como Sardina y presenta una alimentación omnívora, debido a que en el contenido estomacal de esta se han encontrado restos de insectos, semillas, vegetales y nematodos (Maldonado *et al.*, 2005). La Chala fue descrita por el estudio realizado del PRAS-CID-PUCESE (2012), en 18 de 24 comunidades monitoreadas, de aquí la importancia de trabajar con esta especie en la prueba de toxicidad, ya que es abundante en los ríos del norte de la provincia.

Los individuos colectados para el estudio fueron capturados en el Estero Sabalera (anexo #2 y fotografía #6), ubicado en el cantón San Lorenzo cuyas coordenadas UTM¹¹ son: 10137010N, 749634; este cuerpo de agua se encuentra cerca del Refugio de Vida Silvestre la Chiquita que es un área protegida y no tiene contacto con afluentes afectados por la actividad minera.



Fotografía #6: Estero Sabalera

El 3 de mayo del 2013, fueron colectadas 141 Chalas del estero Sabalera. El arte de pesca empleado fue una red de barrido lateral, con la cual se encierran los peces hacia la orilla del río para poder ser capturados (fotografía #7). Se registraron parámetros fisicoquímicos de las aguas del estero como: pH, turbidez, conductividad eléctrica y temperatura del sector donde se obtuvieron los ejemplares, y se envió una muestra de agua conservándola a menos

¹¹ Sistema de coordenadas Universal Transversal de Mercator

de 5 °C en una nevera portátil a un laboratorio acreditado (GRUENTEC LTDA) para analizar su contenido de mercurio. También se capturaron otras especies con el mismo método de pesca, las cuáles fueron contadas para aplicar el índice de diversidad de Shannon-Weaver, con la finalidad de saber la diversidad presente en el curso de agua.



Fotografía #7: Método de captura de Chalas

Fuente: PRAS-CID-PUCESE (2012)

El índice de diversidad de Shannon-Wiener toma en cuenta los dos componentes de la diversidad de una localidad: número de especies y número de individuos por especie; expresando la uniformidad de los valores de importancia a través de todas las especies de la muestra. Mide el grado promedio de incertidumbre en predecir a que especie pertenecerá un individuo escogido al azar de una colección (Magurran, 1989; Baev y Penev, 1995 en Moreno, 2001). La fórmula de cálculo es:

$$H' = \sum p_i \ln p_i$$

Dónde:

H' = contenido de la información de la muestra o índice de diversidad

p_i = proporción de la muestra (n_i/N), que representa el número total de individuos de una especie (n_i) dividido para el número total de individuos de todas las especies (N).

Los valores del índice de Shannon-Wiener inferiores a 1.5 se consideran como de diversidad baja, entre 1.6 y 3.0 se considera como media, y los iguales o superiores a 3.1 como diversidad alta, según indica Magurran (1988).

Las 141 Chalas fueron transportadas al laboratorio en un tanque cilíndrico de 500 L creando en dicho tanque un sistema de recirculación con la bomba de achique (fotografía #8) para evitar la pérdida de oxígeno, el aumento de la temperatura del agua y así impedir la mortalidad de los ejemplares.



Fotografía #8: Sistema de circulación de agua

Los peces fueron distribuidos en las 11 peceras, con una densidad de 10 individuos en cada una. Antes de colocar a cada pez se midió su longitud y peso.

La talla de los individuos se obtuvo marcando su longitud en una hoja de papel manteca (papel para plano), desde la punta de la cola hasta la boca (longitud total), con el fin de definir la homogeneidad de la muestra que es indispensable para un correcto desarrollo de la prueba y que de acuerdo a American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation (APHA, AWWA, WPCF) (1992), la uniformidad de la muestra se consigue si el organismo de mayor longitud no supera 1,5 veces al individuo de menor longitud, para que la muestra sea aceptada en una prueba de toxicidad.

$$\frac{\text{Individuo de mayor longitud}}{\text{Individuo de menor longitud}} \leq 1,5$$

El día 4 de mayo del 2013 se midieron y pesaron los individuos de estudio, distribuyéndolo 10 en cada pecera (anexo #3). La relación entre el individuo de mayor longitud con el de menor longitud no sobrepasó el valor de 1,5 (tabla I).

TABLA I: Uniformidad de la muestra

IML (cm)	ImL (cm)	Relación=IML/ImL
4,90	3,40	1,44

El peso de los peces se registró empleando una balanza digital con sensibilidad de 0,1g, con la finalidad de calcular la cantidad de alimento diario que se les debe proporcionar a los organismos para su correcto desarrollo y que según la FAO (2013), debe corresponder al 2.5% de su peso diario, esta cantidad se calcula con la siguiente fórmula:

$$NA = \text{Biomasa de peces (g)} * 0,025$$

Donde NA es la masa en gramos de alimento diario que se debe suministrar a los peces.

Se realizó el registro del peso de los peces para calcular la cantidad de alimento peletizado que se le debe colocar a cada pecera (tabla II).

TABLA II: Alimento diario proporcionado a los peces

Pecera	Peso total (g)	Alimento diario (g)
1	17,2	0,43
2	18,9	0,47
3	19,9	0,50
4	23,5	0,59
5	22,0	0,55
6	21,8	0,55
7	18,2	0,46
8	18,1	0,45
9	17,9	0,45
10	17,9	0,45
11	19,5	0,49

Según la APHA, AWWA, WPCF (1992), los peces tienen que pasar por un proceso de aclimatación de 14 días, se les dio de comer diariamente hasta que comenzó la prueba, momento en el cual se suspendió el suministro de alimento.

A las peceras se les renovó el 50% del volumen de agua que poseían (20L) cada 4 días, y se realizó una renovación total del líquido el 14vo día, período que comprende la fase de

aclimatación. El agua usada en la renovación era agua de lluvia a la cual se le realizó un análisis para determinar la concentración de mercurio, resultando un valor de $<0,0001$ mg Hg/L, el cual no interfirió en la prueba de toxicidad.

2.1.3. Estimación del volumen del reactivo.

Estudios referenciales como los realizados por Hirt y Domitrovick (2000) y Muñoz y Palacio (2010), utilizaron como tóxicos de referencia el bicloruro de mercurio (HgCl_2), para aplicar este reactivo en las peceras 1 y 6 (en este estudio estas 2 peceras son las que contienen menor concentración de mercurio) se necesitarían 0,05 mg de HgCl_2 (anexo #4), cantidades tan ínfimas que no se pudieron determinar con los instrumentos que cuenta el laboratorio de la universidad. Otro de los inconvenientes que tiene este químico es que es sumamente venenoso, como indica Analytyka (2013), esta sustancia es insoluble en agua, tiene un límite de exposición de $0,025$ mg/m³ y se debe utilizar bajo vigilancia técnica.

El sulfato de mercurio (HgSO_4) es una de las sales de mercurio recomendado en ensayos de laboratorio. En la pecera 1 y 6 se necesitaban 0,06 mg de HgSO_4 (anexo #5) esta cantidad no se pudo medir al no disponerse de una balanza analítica. Según el Grupo Prevenir (2011), uno de los inconvenientes de este químico es que produce humos altamente tóxicos, por lo cual decidimos descartarlo como reactivo de referencia.

El mercurio metálico o Azogue (nombre comercial) que es el que se utiliza en la actividad minera, no se pudo emplear debido a que este no es soluble en agua, se realizó una consulta a la analista técnica Cristina Aracely Torres Hinojosa del Centro de Investigaciones y Control Ambiental (CICAM) de la Escuela Politécnica Nacional, esta explicó que la mejor opción para la prueba era trabajar con el mercurio estándar (solución 1000 mg Hg/L) ya que este es soluble en el agua, también indicó la manera en que se debe aplicar el contaminante, consultando con diferentes bibliografías se tomó en cuenta esta sugerencia en el desarrollo de este trabajo experimental.

El mercurio estándar (fotografía #9 y anexo #6) según Carlo Erba Reagenti (2010) es un reactivo ideal para trabajos de laboratorio y además es miscible en agua.



Fotografía #9: Mercurio estándar utilizado en la prueba de toxicidad

Se realizó el cálculo teórico de la concentración de mercurio estándar que debe contener cada pecera (tabla III).

TABLA III: Concentración de mercurio en peceras

	Unidad	Ensayo					Repetición					P11 ¹
		P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	
CM ²	mg/L	0.001	0.005	0.025	0.125	0.625	0.001	0.005	0.025	0.125	0.625	0.000
VP ³	L	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00

1: Control.

2: Concentración de mercurio en las peceras

3: Volumen de agua

Según el TULAS el límite permisible para la conservación de flora y fauna es de 0,0002 mg Hg/L el cuál es demasiado bajo para realizar esta investigación, por lo cual se tomó como punto de partida 0,001 mg Hg/L que es el límite máximo permisible de mercurio para aguas de consumo humano de acuerdo a la tabla #1 del Anexo 1 del TULAS.

Para el cálculo del reactivo del contaminante se empleó la ecuación de Brown *et al.* (1998).

$$CR \times VR = CP \times VP$$

Dónde:

CR es la concentración del reactivo que es 1000mg/L.

VR es el volumen de mercurio estándar que se necesita en mililitros.

CP es la concentración que se desea en cada pecera en mg/L.

VP es el volumen a utilizarse en las peceras (40L).

De esta fórmula se despejó VR para determinar la cantidad de Hg a emplear en cada pecera (tabla IV).

TABLA IV: Volumen de mercurio utilizado en cada pecera.

	Unidad	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11
CP	mg/L	0.001	0.005	0.025	0.125	0.625	0.001	0.005	0.025	0.125	0.625	0.000
VP	L	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00
VR	ml	0,04	0,20	1,00	5,00	25,00	0,04	0,20	1,00	5,00	25,00	0,00

Se utilizaron pipetas de 2 y 10 ml en la medición de la solución (fotografía #10 y #11). Durante cuatro días se aplicaron las medidas correspondientes a cada pecera, realizándose observaciones cada 12 horas (tabla V) para determinar la mortalidad de los peces.



Fotografía #10: Medición de la concentración de mercurio a aplicarse. Fotografía #11: Aplicación del contaminante en las peceras.

TABLA V: Intervalos de monitoreo

Día	Intervalo	Fecha y hora de Inicio	Fecha y hora de Finalización
1	12 H	Sábado 18 de Mayo – 08:00	Sábado 18 de Mayo – 20:00
	24 H	Sábado 18 de Mayo – 20:00	Domingo 19 de Mayo – 08:00
2	36 H	Domingo 19 de Mayo – 08:00	Domingo 19 de Mayo – 20:00
	48 H	Domingo 19 de Mayo – 20:00	Lunes 20 de Mayo – 08:00
3	60 H	Lunes 20 de Mayo – 08:00	Lunes 20 de Mayo – 20:00
	72 H	Lunes 20 de Mayo – 20:00	Martes 21 de Mayo – 08:00
4	84 H	Martes 21 de Mayo – 08:00	Martes 21 de Mayo – 20:00
	96 H	Martes 21 de Mayo – 20:00	Miércoles 22 de Mayo – 08:00

2.1.4. Análisis estadístico.

Los estudios realizados por [Lagarto *et al.* (1999); Cordero *et al.* (2005); León (2006); Silva *et al.* (2007); Iannacone y Alvariño (2007); Mendoza-Rodríguez (2007); Morales y Contreras (2010); Peluso (2011), entre otros] sustentan que el análisis probit es un método apropiado para la obtención del LC₅₀; por lo cual en este estudio se ha tomado esta metodología para analizar los datos obtenidos en la prueba de toxicidad.

Los autores anteriormente mencionados establecen que el análisis probit, o regresión probit, es un procedimiento que mide la relación entre la intensidad de un estímulo y la proporción de casos que presentan una cierta respuesta a dicho estímulo. Es útil para las situaciones en las que se dispone de una respuesta dicotómica que se piensa puede estar influenciada o causada por los niveles de alguna o algunas variables independientes, y es particularmente adecuada para datos experimentales. Este procedimiento le permitirá estimar la intensidad necesaria para que un estímulo llegue a inducir una determinada proporción de respuestas, como la dosis efectiva para la mediana (SPSS Inc. 1989, 2011).

Para el análisis de resultados de la prueba de toxicidad aguda se empleó el programa estadístico SPSS, con el método de regresión probit que se detalla en el anexo #7.

2.1.5. Tratamiento del agua utilizada.

Con la finalidad de evitar impactos negativos el agua utilizada en el ensayo fue tratada de la siguiente manera:

Durante 1 mes el agua empleada fue recirculada a través de filtros de grava con carbón activado, material que según datos del EPA (2003) puede eliminar ciertos tipos de metales, siempre que los mismos estén presentes en pequeñas cantidades.

También se trató con el químico llamado Procell que según HS aqua (2013), es un producto que sirve para remover el cloro y los metales pesados de los acuarios. Aplicando 3ml por cada 10 L de agua (12 ml para cada pecera).

En la TABLA VI se indican las fechas y los productos utilizados para el tratamiento del agua utilizada en la prueba del LC50.

TABLA VI: Fechas y materiales utilizados para el tratamiento del agua empleada.

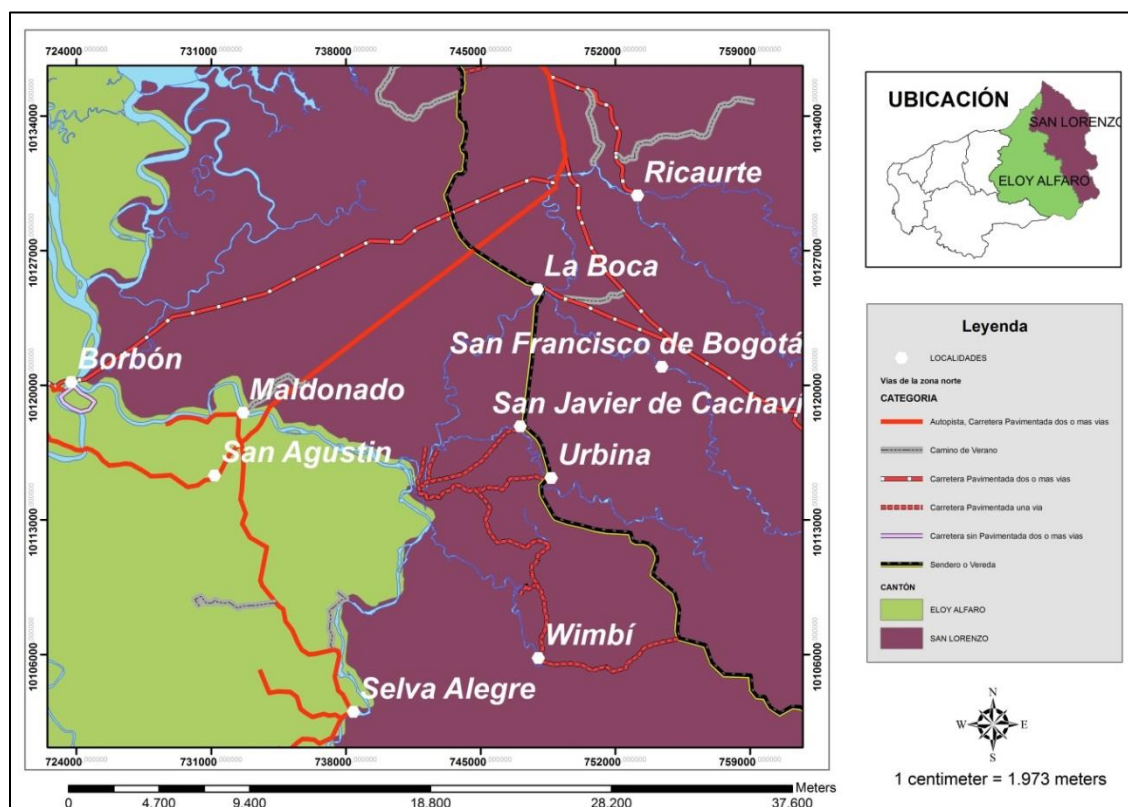
Fecha	Material Filtrante
Miércoles 22 de mayo	Filtro de carbón activado + Procell
Miércoles 29 de mayo	Filtro de carbón activado
Miércoles 5 de junio	Filtro de carbón activado
Miércoles 12 de junio	Filtro de carbón activado + Procell
Miércoles 19 de junio	Filtro de carbón activado

Para verter el agua de la prueba se enviaron muestras de agua de las Pecera 4 y 5, que eran las peceras con las mayores concentraciones de Hg, para ser analizadas en un laboratorio acreditado ante el OAE¹², dicho resultado fueron menores a 0,001 mg Hg/L que es el límite establecido por el TULAS, por esta razón las aguas de las peceras se evacuaron al sistema de alcantarillado de la ciudad.

¹²Organismo de Acreditación Ecuatoriano

2.2. Consumo de pescadode río en el norte de la provincia.

Para establecer un aproximado de peces y de especies que están en la alimentación de los habitantes del norte de la provincia de Esmeraldas se realizaron encuestas (anexo #8) en 10 poblaciones de los cantones de San Lorenzo y Eloy Alfaro (mapa #1), relacionadas con el monitoreo del PRAS-CID-PUCESE del 2012, las cuáles han sido afectadas por la actividad minera ilegal.



Mapa #1: Comunidades de Muestreo

Las encuestas se aplicaron el 28 de junio y 21 de julio del 2013 (fotografía #12) a 10 personas en cada población, en especial a mujeres, dando un total de 100 encuestados.



Fotografía #12: Persona de la comunidad de Wimbí encuestada

En la determinación de resultados de consumo se aplicó la siguiente fórmula:

$$\text{Consumo} = \frac{\text{Ingesta } \left(\frac{\text{kg}}{\text{día}}\right)}{\text{Promedio de habitantes}}$$

2.3. Extrapolación de criterios internacionales.

Para calcular el límite permisible de un químico en alimentos, primero se debe analizar si el producto a consumir está o no contaminado; el estudio realizado por el PRAS-CID-PUCESE en el 2012, dice que los peces encontrados en los ríos de las localidades afectadas por la actividad minera en el norte de la provincia de Esmeraldas presentan mercurio en su carne. Al saber esto para estimar el contenido de este metal (Hg) permisible en carne de pescado se siguieron los pasos que se detallan a continuación:

2.3.1. Exposición de la población del norte de la provincia de Esmeraldas al contaminante por el consumo de pescado.

En la determinación del mercurio por el consumo diario de pescado se aplicó la siguiente fórmula utilizada por Healt Canadá (2007) y por GENCAT¹³ (2007):

$$E = \frac{\text{Consumo} * \text{Contaminante}}{BW}$$

Dónde:

¹³Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria

E= es la exposición al mercurio que tiene la población por la ingesta de pescado (mg/Kg/día)

Consumo= es la ingesta diaria de pescado (Kg/día)

Contaminante= es la concentración de Hg presente en la carne de pescado (mg/Kg).

BW= es el peso promedio de una persona adulta (70 Kg).

En los datos de consumo se trabajó con 2 valores, el consumo de especies de agua dulce y el consumo per cápita de pescado en el Ecuador descrito en la bibliografía.

2.3.2. Riesgo potencial por la exposición al mercurio en el consumo de pescado.

El riesgo potencial se calculó a través de la fórmula utilizada por Healt Canadá en el 2007:

$$R = \frac{E}{IDA} \times 100$$

Dónde:

R= riesgo potencial (Los valores de $R \geq 100$ presentan un riesgo para la población).

E= es la exposición al mercurio que tiene la población por la ingesta de pescado (mg/Kg/día)

IDA= es la ingesta diaria admisibles de Hg para el ser humano (mg/Kg/día)

El metilmercurio es la forma del mercurio que se encuentra en un 90% en la carne de pescados y mariscos que se consumen habitualmente en el mundo (Health & Consumer Protection Directorate-General, 2004). En este estudio se utilizó la dosis de referencia del metilmercurio que es 0,0001 mg/kg/día (EPA, 2010), debido a que en Ecuador la ingesta diaria admisible de contaminantes para el ser humano no ha sido determinada.

2.3.3. Determinación de nivel de mercurio permisible en tejidos de peces para consumo humano.

Al conocer el riesgo potencial del mercurio por la exposición de la población por el consumo de pescado, se determinó un límite permisible de Hg en carne de pescados y

mariscos, con la finalidad de asegurar la salud de los consumidores, de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$TRC = \frac{BW * (RfD - RSC)}{FI}$$

Dónde:

TRC= es el criterio de residuos en tejidos de peces (mg/Kg)

BW= es el peso promedio de una persona adulta (70 Kg)

RfD= Dosis de referencia verificada, es una estimación de la exposición diaria a los seres humanos, que pueden permanecer sin riesgo apreciable de efectos deletéreos durante toda la vida; los valores pueden variar según el químico, en esta investigación se trabajó con el valor del metilmercurio que es 0,1 ug/Kg-día. (EPA, 2011)

RSC= contribución relativa de la fuente, es el porcentaje de la exposición diaria total para el contaminante contribuido por el agua potable expresado en mg/kg. Un valor distinto del valor por defecto puede ser utilizado cuando existe información relevante disponible. La cifra que recomienda EPA (2002) es 0,027 ug/Kg.

Los análisis realizados por PRAS-CID-PUCESE (2012) indican que en las zonas monitoreadas no se encontró mercurio en los ríos estudiados (anexo #9), por lo que el valor de la Contribución Relativa de la Fuente (RSC) fue 0.

FI= consumo pescado al día (g/día), este dato se calculó a partir de las encuestas realizadas en las comunidades.

3. RESULTADOS

3.1. Determinación de la LC₅₀

Los parámetros fisicoquímicos medido *in-situ* el 3 de mayo del 2013, al momento de realizar la recolección de los organismos de prueba fueron los siguientes:

TABLA VII: Parámetros *in-situ* registrados en el muestreo

		Coordenada X	749734
		Coordenada Y	10136319
Límite permisible	Unidad	Parámetro	Estero Sabalera
De 6 a 9		pH	7,10
	°C	Temperatura del agua	28,3
	uS	Conductividad	35
100	NTU	Turbidez	11,63

El estero Sabalera al momento de realizar la captura de los individuos para la prueba de toxicidad presentó una temperatura de 28,3 °C, cercana a la temperatura ambiente, contó con un pH neutro y una turbidez de 11,63 NTU que no sobrepasó los límites permisibles de calidad de agua establecidos en el TULAS.

Se considera al cuerpo de agua del estero Sabalera libre de mercurio al haber conocido los resultados del laboratorio acreditado de una muestra enviada como se observa en el anexo #10.

La diversidad de especies capturadas en el estero Sabalera es la siguiente:

TABLA VIII: Índice de diversidad del estero Sabalera

Estero Sabalera				
Especie	N° ejemplares	Proporción (Pi)	Log ₂ Pi	Pi*Log ₂ Pi
Vieja Azul	120	39,87%	-1,326729081	-0,528928537
Chala	150	49,83%	-1,004800986	-0,500731389
Espalda de Vieja	30	9,97%	-3,326729081	-0,331567683
Guabina	1	0,33%	-8,233619677	-0,027354218
Total	301		H=	1,38858183

El bajo índice de diversidad (H=1,3885) presume que estas aguas se encuentran alteradas. Pero los parámetros fisicoquímicos y la ausencia de mercurio en las aguas de este estero permitieron emplear peces de este curso de agua para el desarrollo del trabajo.

Los datos de mortalidad reportados durante los 4 días de la prueba de toxicidad, se expresan en la siguiente tabla:

TABLA IX: Mortalidad presente durante los 4 días de prueba

Peceras		P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11
CM (mg/L)		0.001	0.005	0.025	0.125	0.625	0.001	0.005	0.025	0.125	0.625	0.000
Día 1	12 H	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	24 H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Día 2	36 H	0	0	0	0	1	0	0	0	0	5	0
	48 H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Día 3	60 H	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0
	72 H	0	0	0	0	2	0	0	0	0	1	0
Día 4	84 H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	96 H	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
Total		0	0	0	0	8	0	0	0	0	7	0

Los organismos de la pecera P5 fueron más sensibles al contaminante que los de la pecera P10 debido a que en la P5 en el transcurso de las primeras 12 horas de prueba se presentó la muerte de uno de los 10 individuos sometidos a la prueba de toxicidad.

En la pecera P5 y P10, que tuvieron la misma concentración de mercurio, se observó una mortalidad del 80% y 70% respectivamente de los individuos sometidos a la prueba; en las otras peceras no se registró mortalidad alguna.

En la figuras #1 y #2 se puede observar que la mortalidad de las peceras P5 y P10 no presentó un patrón establecido, el período que el contaminante empezó a ser perjudicial para los organismos de prueba fue de 30 a 72 horas.

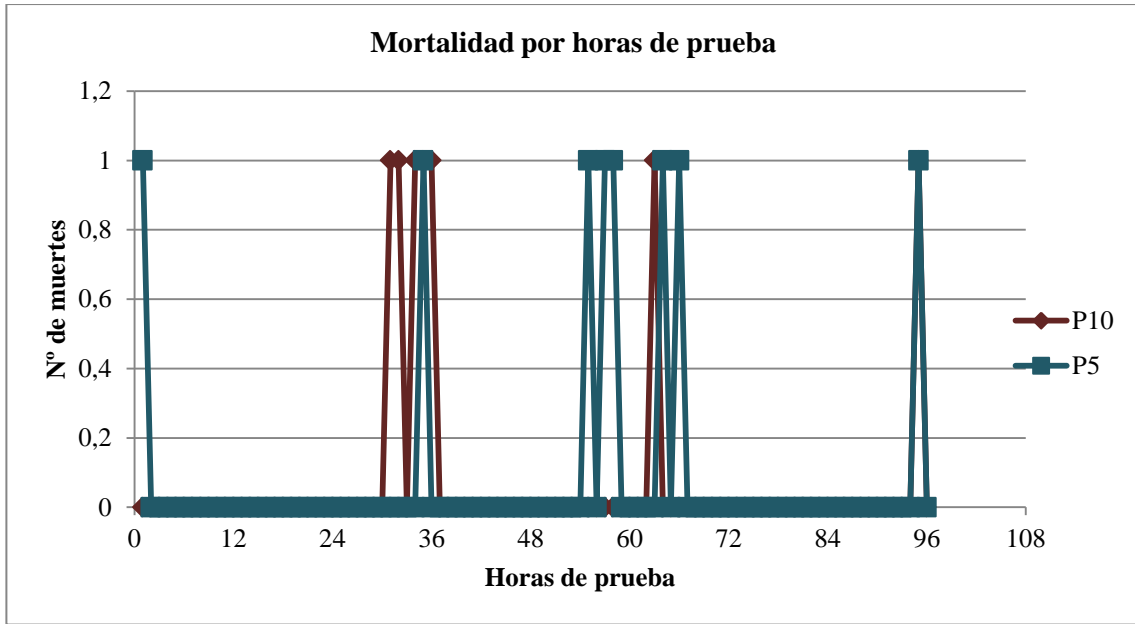


Figura #1: Número de individuos muertos por horas de prueba.

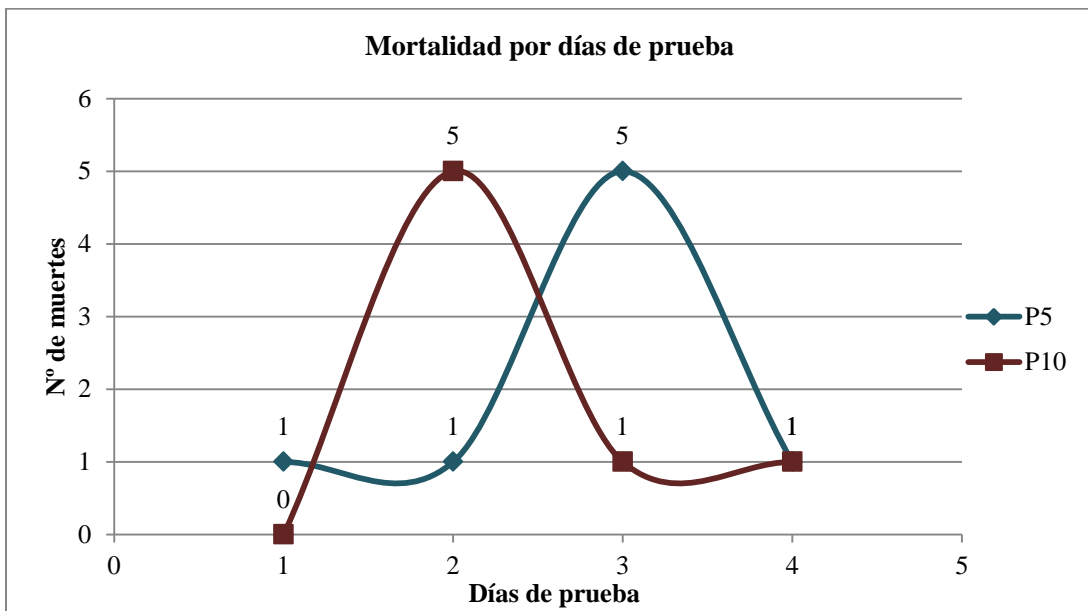


Figura #2: Número de individuos muertos por días de prueba.

Con los datos del anexo #11 de acuerdo al método PROBIT el valor de la concentración letal 50 es 0,440 mg Hg/L, el límite inferior es 0,230 mg/L y su límite superior es 0,600 mg/L. Valores calculados con un intervalo de confianza del 95%.

El análisis del agua empleada en esta prueba previo a su descarga al sistema de alcantarillado en la pecera P4 fue $<0,0001$ mg/L y en la P5 fue $0,0004$ mg/L (anexo #12). De acuerdo al límite permisible de $0,001$ mg/L la misma no presentaba ningún riesgo para el recurso hídrico.

3.2. Consumo de pescado en el norte de la provincia.

Se realizaron 100 encuestas, de las cuales 70 fueron aplicadas a mujeres y 30 a hombres. Se estableció un promedio de 4 personas por cada hogar. El análisis de las encuestas realizado se detalla a continuación:

Pregunta #1: ¿Con qué frecuencia consume pescado?

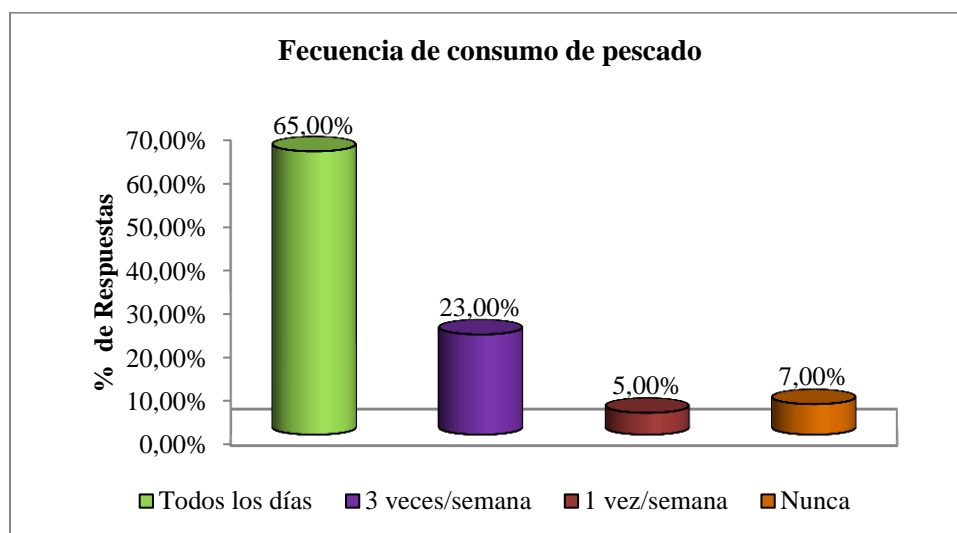


Figura #3: Frecuencia de consumo de pescado

El análisis determinó que el 65% de personas encuestadas consumen pescado a diario, un 23% de los encuestados 3 veces por semana, un 5% de los encuestados sólo una vez por semana y un 7% nunca consume pescado.

Pregunta #2: ¿Cuántas libras de pescado compran/pescan a la semana?

El promedio de consumo de pescados marinos y de especies de agua dulce se expresa a continuación:

TABLA X: Promedio de pescado que compran o pescan para consumo (lbs/semana).

Libras que compra/pesca a la semana	
Promedio de pescadocomprado (marinos)	8,57
Promedio depescado obtenido en el rio	0,18

Esta tabla nos indica que 8,57 libras es el promedio de pescado (marino) comprado a la semana y 0,18 libras es el promedio de pescado que las personas encuestadas obtienen en el río. Dividiendo estos promedios para la media de personas por hogar tenemos que el consumo de pescado de agua dulce asciende a 0,006429 lb/hab/día y el consumo de pescados marinos es 0,306071 lb/hab/día. Transformando los datos obtenidos de libras a kilogramos obtuvimos que el consumo de pescado de agua dulce asciende a 0,002917 Kg/hab/día y el consumo de pescados marinos se aproxima a 0,138871 Kg/hab/día.

Pregunta #3: Dónde obtiene el pescado que consume.

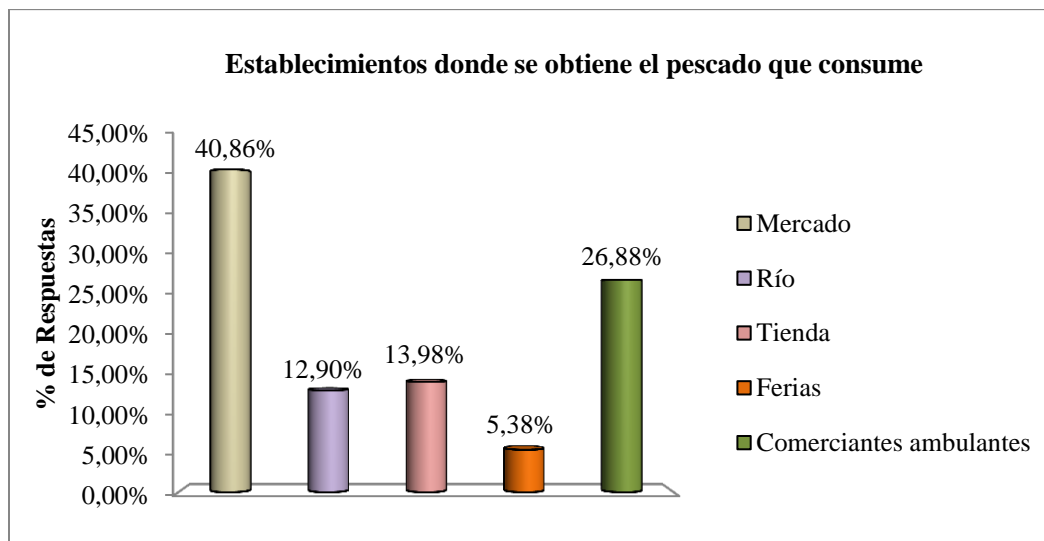


Figura #4: Establecimientos donde se obtiene el pescado que consume la población encuestada.

En este apartado con mercado nos referimos a un espacio establecido donde se oferta una amplia gama de productos en grandes cantidades y que abre sus puertas todos los días, por tienda describimos a un establecimiento que oferta una amplia gama de productos pero en

pequeñas cantidades, y por ferias nos referimos a un espacio físico sin un lugar fijo que oferta productos sin un tiempo establecido.

El 40,86% de los encuestados manifestaron que obtienen el pescado de consumo en el mercado, un 26,88% de los encuestados obtienen el pescado de comerciantes ambulantes, un 13,98% de los encuestados lo adquieren en tiendas, el 12,90% de los encuestados lo pescan directamente del río y finalmente un 5,38% lo adquieren en ferias.

Pregunta #4: ¿Cuál de los siguientes pescados prefiere consumir?

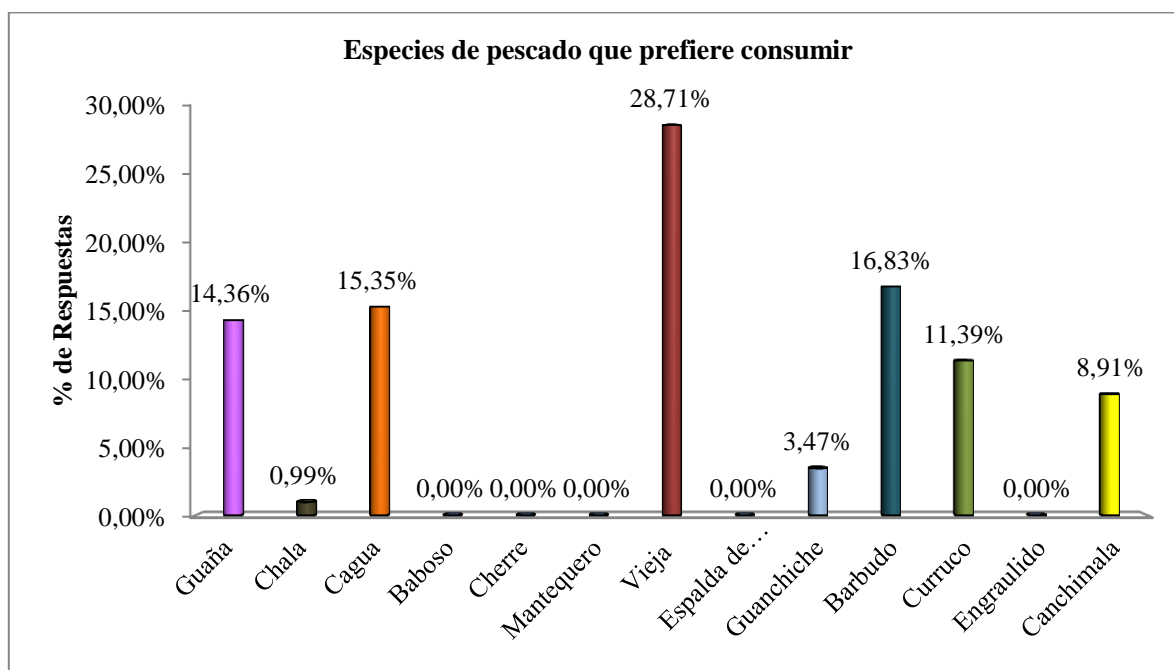


Figura #5: Especies de pescado que prefiereconsumir.

Se determinó que la Vieja es el pescado más consumido con un 28,71% como se observa en la figura #5 y en el anexo #13, seguida del Barbudo con un 16,83% de preferencias, por la Cagua con un 15,35% y por la Guaña que obtuvo un 14,36% de respuestas.

Pregunta #5: Ud. considera que el río que están su comunidad está contaminado.

El 86% de la población encuestada consideró que el río se encuentra contaminado y el 14% restante piensan que el río no presenta problemas de contaminación.

Pregunta #6: ¿Qué actividades considera que son las causantes de la contaminación del río?

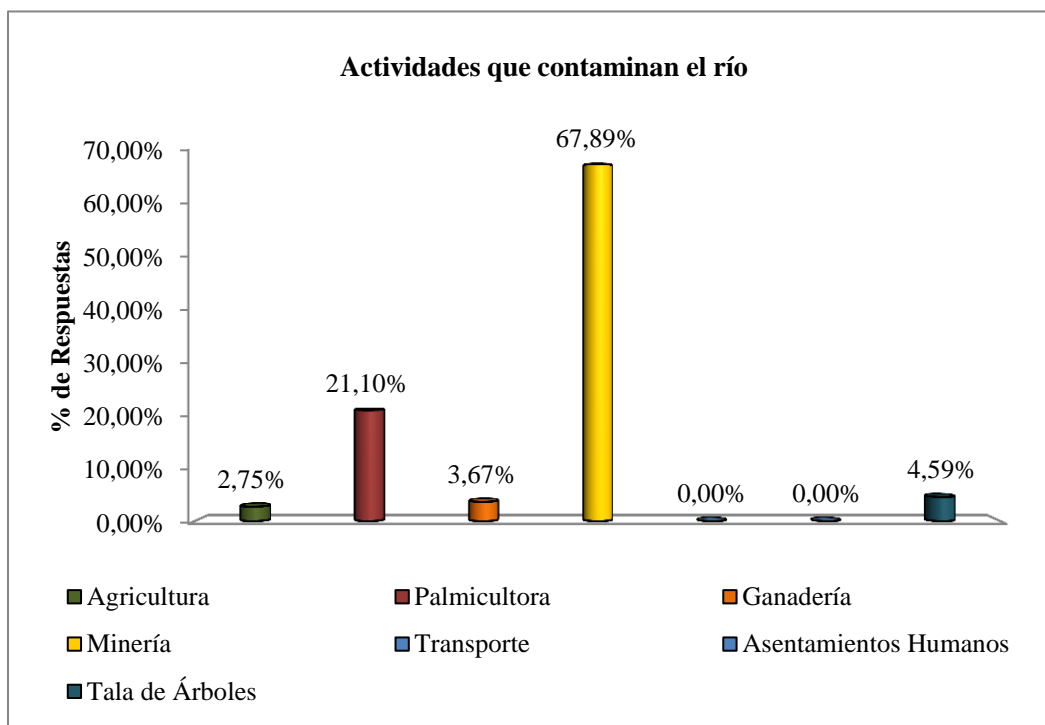


Figura #6: Actividades que contaminan el río.

La actividad minera de acuerdo a un 67,89% de los encuestados es la actividad más contaminante para el río, seguida de la actividad palmicultora con un 21,10% de encuestados.

Pregunta #7: Siente que las autoridades se preocupan por la calidad de pescado que consume.

El 70% de los encuestados respondieron que las autoridades no se preocupan por la calidad de los peces que consumen y el 30% eligieron que las autoridades si se preocupan por la calidad de los peces de consumo.

En este ítem se preguntó por qué consideran que las autoridades se preocupan o no por la calidad de los peces que consumen y las respuestas obtenidas fueron las siguientes:

TABLA XI: Consideran que las autoridades se preocupan o no lo hacen por la calidad de peces que consume y ¿por qué?

Si	No
Tratan de sacar las minas.	Permiten que las minas boten su agua al río
Hacen brigadas de salud	No visitan a la comunidad.
Prohíben la minería ilegal.	Siguen contaminado todo.
Eliminan las minas ilegales.	No establecen una prohibición.
El río que pasa por la Boca está limpio.	El río está contaminado
Regulan la actividad minera.	No controlan a los comerciantes ambulantes.
	No arreglan el mercado de San Lorenzo.
	No limpian el río.
	No continuaron con el monitoreo de los ríos.
	No hay un mercado en San Javier de Cachaví.
	Dejan que se lave en el río.
	Dejan que vendan peces contaminados.
	Dejan que boten químicos al río.
	Deja que boten basura al río.
	No apoyan las iniciativas en contra de la minería.

Pregunta #8: ¿Qué tipo de enfermedades ha sufrido en el último año?

Las respuestas obtenidas de esta pregunta fueron las siguientes:

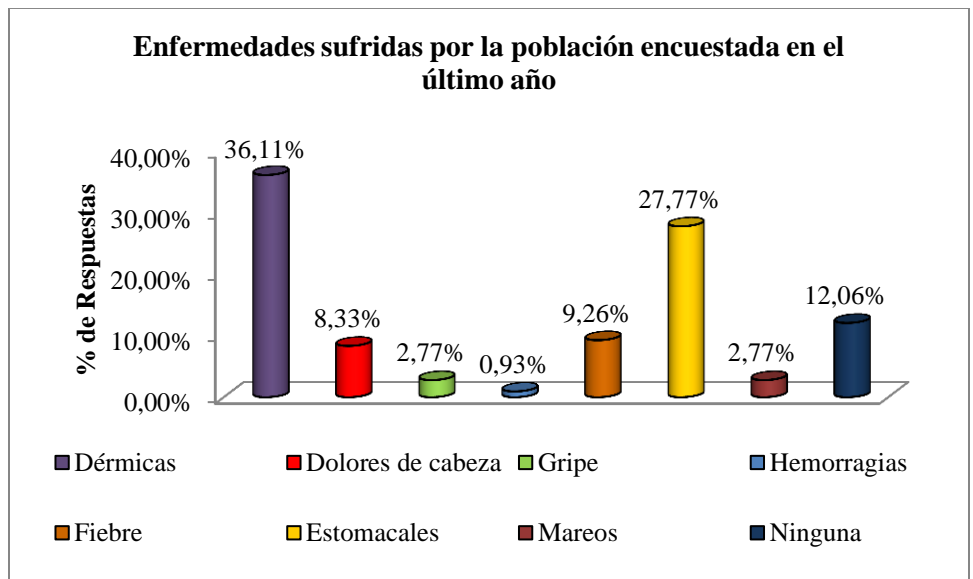


Figura #7: Enfermedades sufridas por la población encuestada en el último año

El 36,11% de los encuestados han sufrido de problemas en la piel, un 27,77% de enfermedades estomacales y un 12,06% no han presentado ninguna enfermedad en el último año.

3.3.Extrapolación de criterios internacionales.

3.3.1. Exposición de la población al contaminante por consumo de pescado.

Los datos de exposición al mercurio (mg/Kg/día) obtenidos al emplear el promedio de las concentraciones de mercurio reportadas en peces de la zona se expresan en la siguiente tabla y figura:

TABLA XII: Exposición de la población al mercurio por el consumo de pescado.

Especie	Promedio concentración Hg (mg/Kg)	CPA ¹	CPE ²
		Exposición	Exposición
Vieja	0,12	0,000001	0,000005
Barbudo	0,44	0,000017	0,000121
Cagua	0,11	0,000004	0,000030
Guaña	0,12	0,000005	0,000033
Curruco	0,00	0,000000	0,000000
Canchimala	0,75	0,000029	0,000206
Guanchiche	0,00	0,000000	0,000000
Chala	0,04	0,000002	0,000011

1: Consumo de pescados de agua dulce que es 0,0029 Kg/hab/día.

2: Consumo per cápita de pescado en el Ecuador que es 0,0192 Kg/hab/día (FLACSO-MIPRO, 2011)

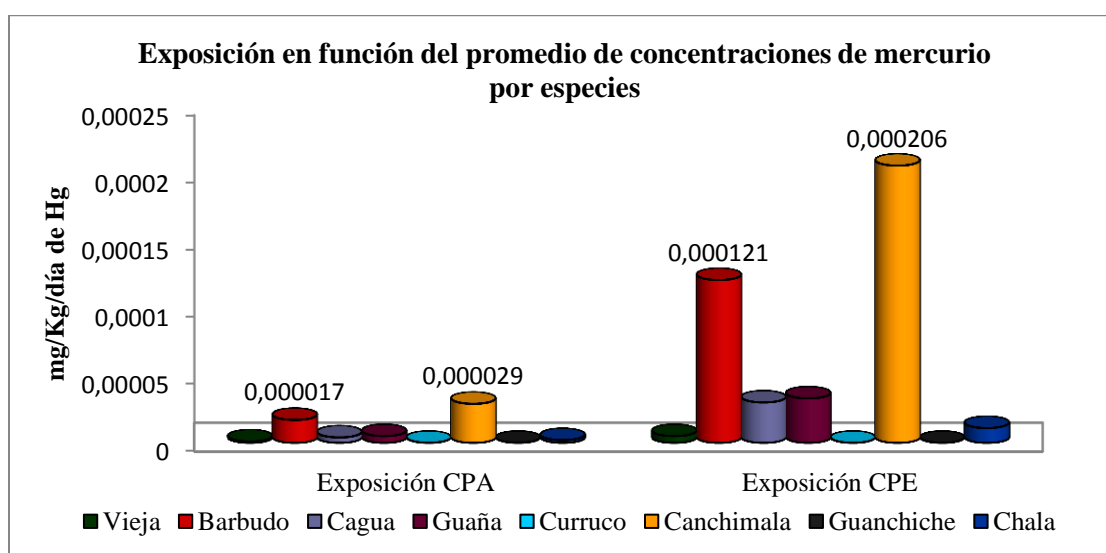


Figura #8: Exposición de la población en función del promedio de concentraciones de mercurio por especies.

Al utilizar los datos de las máximas concentraciones de mercurio reportada en peces de la zona, los datos de exposición se incrementan a los siguientes valores:

TABLA XIII: Exposición al mercurio por el consumo de pescado.

Especie	Máxima concentración Hg (mg/Kg)	CPA	CPE
		Exposición	Exposición
Vieja	0,10	0,000004	0,000027
Barbudo	3,30	0,000138	0,000905
Cagua	0,70	0,000029	0,000192
Guaña	1,20	0,000050	0,000329
Curruco	0,00	0,000000	0,000000
Canchimala	2,20	0,000092	0,000603
Guanchiche	0,00	0,000000	0,000000
Chala	0,34	0,000014	0,000093

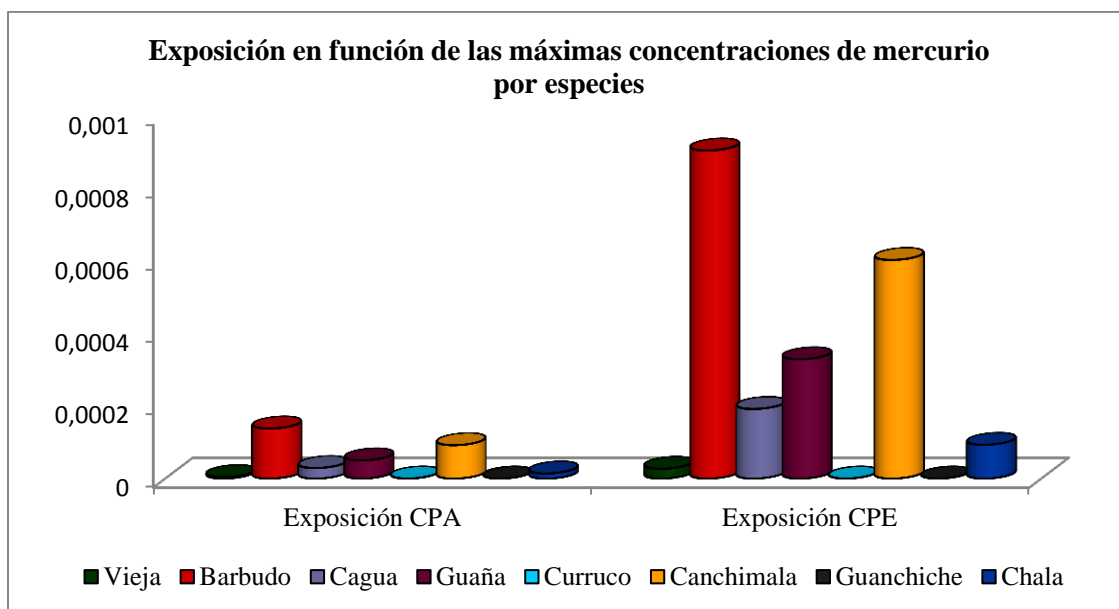


Figura #9: Exposición de la población en función de las máximas concentraciones de Hg por especies

Analizando la exposición de la población al Hg en función del promedio de las concentraciones y las máximas concentraciones del contaminante, las especies que presentan un aporte significativo son el Barbudo y la Canchimala.

3.3.2. Riesgo potencial por la exposición al mercurio en el consumo de pescado.

El riesgo por la exposición a este químico que sufren los habitantes de la zona norte de la provincia se observan a continuación:

TABLA XIV: Riesgo potencial en el consumo de pescado con el promedio de concentraciones de mercurio.

Especie	Promedio concentración Hg (mg/Kg)	CPA	CPE
		Riesgo	Riesgo
Vieja	0,12	0,77	5,48
Barbudo	0,44	17,11	120,68
Cagua	0,11	4,27	30,17
Guaña	0,12	4,66	32,91
Curruco	0,00	0,00	0,00
Canchimala	0,75	26,16	205,71
Guanchiche	0,00	0,00	0,00
Chala	0,04	1,55	10,97

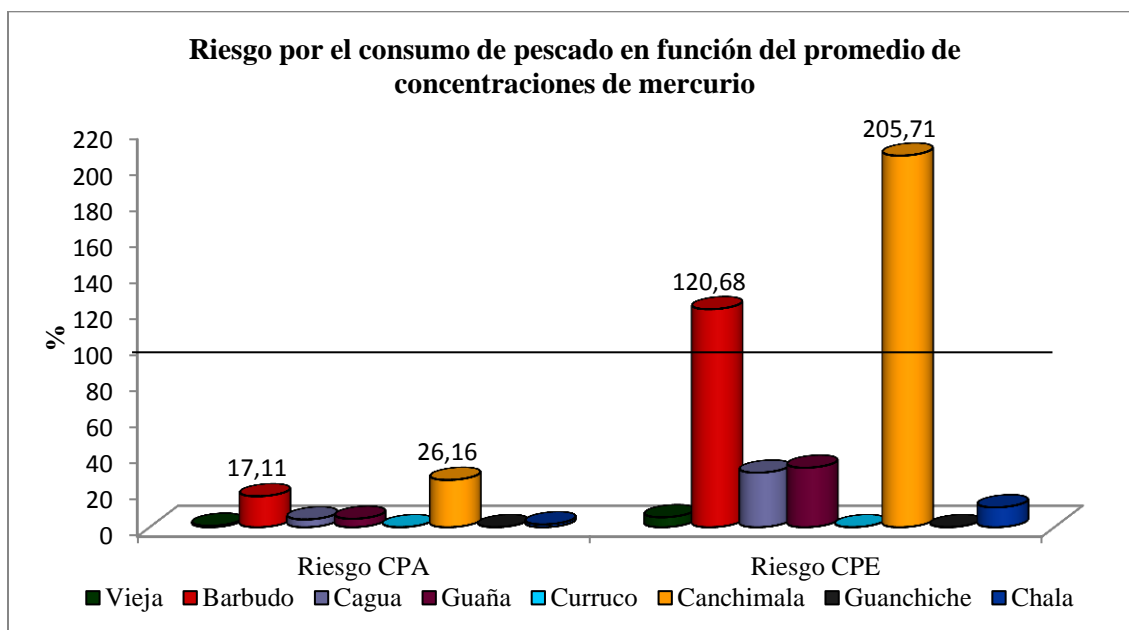


Figura #10: Riesgo por el consumo de pescado en función del promedio de concentraciones de mercurio.

La Canchimalla y el Barbudoluego de analizar el promedio de las concentraciones de Hg en sus tejidos con el consumo per cápita descrito para el Ecuador representan un riesgo en la salud de los habitantes del norte de la provincia especialmente la Canchimalla.

TABLA XV: Riesgo potencial en el consumo de pescado con las máximas concentraciones de mercurio.

Especie	Máxima concentración Hg (mg/Kg)	CPA	CPE
		Riesgo	Riesgo
Vieja	0,10	4,16	27,42
Barbudo	3,30	137,50	905,14
Cagua	0,70	29,16	192,00
Guaña	1,20	50,00	329,14
Curruco	0,00	0,00	0,00
Canchimala	2,20	91,67	603,42
Guanchiche	0,00	0,00	0,00
Chala	0,34	14,16	93,25

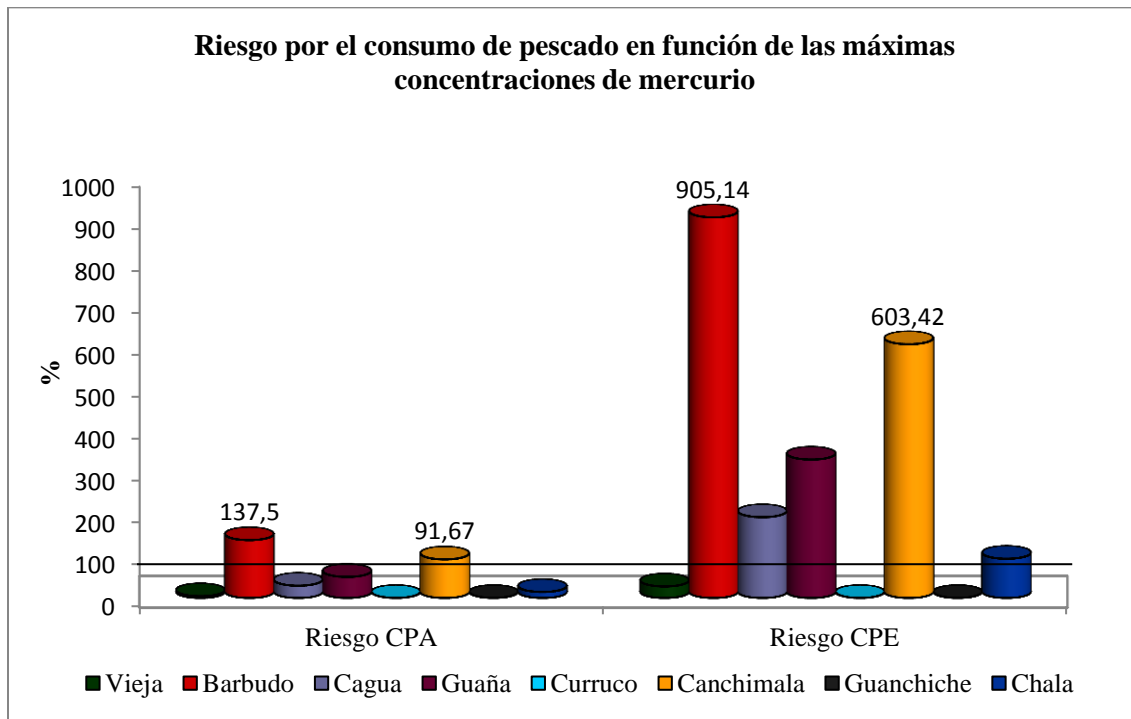


Figura #11: Riesgo por el consumo de pescado en función de las máximas concentraciones de mercurio.

El riesgo es más grave al calcularlo en función de las máximas concentraciones de Hg encontrado en la carne de estos peces ya que el Barbudo representa un riesgo para la población del norte inclusive con un consumo bajo de pescado como el calculado en las encuestas.

3.3.3. Determinación del nivel de mercurio permisible en carne de pescado para consumo humano.

Considerando estos riesgos se planteó la necesidad de realizar el cálculo de la cantidad máxima de mercurio que de estar presente en la carne de pescado no perjudique la salud de los consumidores, el cuál es de 2,40 mg Hg/Kg en función del consumo de pescados de agua dulce, utilizando el consumo de peces marinos es 0,05 mg Hg/kg y trabajando con el consumo per cápita descrito para nuestro país el límite es 0,36 mg Hg/Kg, como se puede observar en la siguiente tabla:

TABLA XVI: Límites permisibles de mercurio en carne de pescado

	Consumo (g/hab/día)	Límite Permisible (mg Hg/Kg)
Pescados de agua dulce	2,917	2,40
Pescados marinos	138,871	0,05
Per cápita del Ecuador	19,200	0,36

4. DISCUSIÓN

La presente investigación permitió establecer criterios que sirven para la determinación de límites permisibles de mercurio en peces como respuesta a la problemática de la actividad minera en el norte de la provincia de Esmeraldas. Estos criterios fueron: La aplicación de la prueba de toxicidad aguda LC_{50} en la especie local “Chala” la cual soportó el cautiverio y por ende se pudo determinar la máxima concentración de Hg en agua que puede soportar y la utilización de fórmulas internacionales las que posibilitaron el cálculo del límite permisible de este metal en carne de pescado.

Prueba de toxicidad aguda LC_{50} de mercurio en la Chala.

APHA, AWWA, WPCF (1992), sugieren que los ensayos de toxicidad se realicen con organismos que provengan de centros de cultivo para poder asegurar la uniformidad y el estado de salud de la muestra, pero de no contar con un centro de cultivo se trabaje con individuos que sean recolectados de un lugar que se encuentre en buenas condiciones. Por esto los peces con los que se trabajó en la prueba LC_{50} se obtuvieron del estero Sabalera que es un cuerpo de agua que se considera en buen estado al cursar por el Refugio de Vida Silvestre la Chiquita, además los parámetros fisicoquímicos registrados al momento de la captura de los peces arrojaron buenos indicadores de calidad de agua.

Uno de los puntos débiles que tuvo este estudio fue la limitación de equipos disponibles, debido a lo cual no se pudo registrar durante la fase de aclimatación un seguimiento del nivel de oxígeno disuelto en las peceras que es un factor limitante para los peces en cautiverio, como sostiene León (2006), Alcarazet *al.* (2008) y Peluso (2011), sin embargo esta situación fue estandarizada al contemplar en el diseño experimental la misma aireación (aireadores instalados) y los recambios de agua.

En el presente ensayo por ser un estudio exploratorio se empleó concentraciones altas del contaminante, en la pecera P4 se utilizó 5 ml de Hg y en la pecera P5 se utilizó 25 ml de Hg, los individuos de estas peceras no soportaron estas concentraciones observándose mortalidad de la especie utilizada en el estudio. Los bioensayos que se realicen a futuro con esta especie deben realizarse a concentraciones de mercurio de: 5, 10, 15 20 y 25 ml.

Si bien la mortalidad de los peces sometidos a la prueba de toxicidad no presentó un patrón establecido, la muerte de 5 organismos en el período de 24 a 36 horas en la pecera P10 contrastó con la pecera P5 que en ese período sólo reportó una muerte, esta diferencia podría suponer una afectación externa, pero en las observaciones no se reportó ningún inconveniente y al finalizar el período de 96 horas la muerte de los organismos se tornó uniforme, lo que da a entender que la prueba estuvo bien conducida.

El porcentaje de mortalidad observado en esta experiencia fue de un 80% en la pecera P5 y de un 70% en la pecera P10. Con esto la LC_{50} en Chalas asciende a 0,44 mg Hg/L con un límite inferior de 0,23 mg/L y superior de 0,60 mg Hg/L, por lo cual podríamos entender que esta especie presenta una resistencia al mercurio disuelto en el agua.

Hirt y Domitrovic (2000) reportan valores de LC_{50} cada 24 horas para analizar el tiempo en el que el reactivo se convierte en un agente tóxico para la población sometida a la prueba de toxicidad, realizando esto en el presente estudio, podemos observar que el mercurio afecta significativamente a los organismos a partir de las 48 horas (tabla XVII).

TABLA XVII: Valores de LC_{50} cada 24 horas.

LC_{50} (mg/L Hg)	24 Horas	48 Horas	72 Horas	96 Horas
Valor	2,511	0,839	0,508	0,440
Límite inferior			0,193	0,230
Límite superior			0,739	0,600

Según la APHA, AWWA, WPCF (1992), en el cálculo de la concentración de tóxico que es inocua para un organismo, se divide la máxima concentración tóxica permitida (MCTP) para la LC_{50} en 96 horas del contaminante. La MCTP se determina realizando pruebas a largo plazo identificando la cantidad de reactivo que permita al organismo cumplir con su ciclo de vida.

La determinación de la LC_{50} en la investigación es la base para hallar la MCTP y por consiguiente la concentración de tóxico que sea inocua para los peces, los datos obtenidos permitirán realizar estudios a largo plazo teniendo en cuenta que la concentración de este contaminante no deben sobrepasar el valor de 0,230 mg Hg/L.

Límite permisible de mercurio en carne de pescado.

El consumo de pescado de río en la zona norte asciende a 2,91 g/hab/día dato considerado sumamente bajo, teniendo en cuenta que son localidades que están asentadas en las riberas de los ríos, comparando con poblaciones de la Amazonía ecuatoriana donde el consumo más bajo es de 54 g/hab/día (Sirén, 2011). Pero que se considera un dato aceptable ya que el 86% de los encuestados consideró que el río que pasa por su comunidad se encuentra contaminado.

Además el 70% de la población encuestada consideró que las autoridades no se preocupan por la calidad del pescado que se consume en el norte de la provincia de Esmeraldas debido a que permiten que actividades como la minería y la palmicultura viertan químicos al río, y porque las autoridades no regulan a los comerciantes ambulantes ni a los mercados que venden pescado.

El consumo de pescado marino en esta zona es aproximadamente 8,57 libras de pescado a la semana equivalente a 138 g/hab/día, dato que supera a la media mundial y de América Latina que según la FAO (2012), el consumo per cápita de pescado en el mundo es de 50,41 g/hab/día y en América Latina de 60,27 g/hab/día.

Este dato obtenido (138 g/hab/día) es 7 veces mayor al consumo de pescado del Ecuador que es de 19,17 g/hab/día según datos de la FLACSO-MIPRO (2011). Pero que no es una cifra incoherente ya que estamos hablando de poblaciones de costa donde el consumo de pescado es mayor a la media nacional, además el precio de la libra de pescado en esta zona es bajo teniendo una media de 1,50 dólares versus los precios del pollo, carne de res y cerdo que sobrepasan el valor de 1,75 dólares.

El Barbudo y la Canchimala al ser los peces con mayor concentración de mercurio de las especies reportadas por PRAS-CID-PUCESE (2012) serían los causantes de la mayor exposición y riesgo al mercurio de la población al ser consumidas, en especial el Barbudo que ocupó el segundo lugar en preferencias de consumo en las encuestas realizadas.

Esta situación resultaría alarmante ya que WHO¹⁴ y UNEP¹⁵ (2008), señalan que los sistemas afectados por la exposición al mercurio son el nervioso, cardiovascular, gastrointestinal, respiratorio, hematológica, inmunitario y reproductivo. Y que los grupos más vulnerables son las mujeres embarazadas y los niños en etapa de crecimiento.

Por esto se estableció un límite permisible de mercurio en carne de pescado que ayude a controlar el riesgo al que la población está expuesta por el consumo de pescado. El valor obtenido en la investigación de 0,36 mg Hg/Kg está en los parámetros de la EPA (2010) que es 0,3 y la Unión Europea (2006) que es 0,5, resultado que indica la confiabilidad de la investigación, esta cifra podría ser considerada como base para el desarrollo de una normativa de Seguridad Alimentaria en el Ecuador.

¹⁴ World Health Organization

¹⁵ United Nations Environment Program

5. CONCLUSIONES

El pez denominado Chala se acostumbró rápidamente a las condiciones de laboratorio, atributo que sumado a la abundancia y distribución de esta especie en la provincia de Esmeraldas lo convierte en el candidato ideal para realizar ensayos de toxicidad en peces.

La LC_{50} de mercurio en Chalas calculada fue de 0,44 mg/L con un límite inferior de 0,23 mg/L y superior de 0,60 mg/L, lo que indica que es resistente al contaminante ya que el límite permisible de mercurio para la conservación de flora y fauna establecidos en el TULAS es 0,0002 mg/L.

Esta prueba permite determinar las concentraciones de contaminante en ensayos de largo plazo y dominar la metodología que determinen el nivel máximo de un contaminante en el medio acuático.

La problemática de la actividad minera genera resistencia por parte de los habitantes del norte de la provincia lo que no permite estimar claramente el consumo de pescado en esta zona, pero si se logró determinar que el mercado de San Lorenzo y de Borbón son los principales puntos de distribución de pescado.

El consumo de Canchimala y Barbudo presenta un alto riesgo para los moradores de la zona norte de Esmeraldas inclusive con un tasa de consumo de pescados de agua dulce baja como 2,91 g/hab/día.

Tomando fórmulas internacionales en la determinación de contaminante permitieron establecer el límite permisible de Hg en carne de pescado que es 0,36 mg/Kg como alternativa ante el riesgo presente por el consumo de pescados contaminados con mercurio.

6. RECOMENDACIONES

Estudiar la biología y ecología de la Chala para lograr su producción en cautiverio y considerarla como individuo de prueba en todos los ensayos de toxicidad de organismos acuáticos.

Realizar un test LC_{50} empleando concentraciones de 5, 10, 15, 20 y 25 ml de Hg para comprobar y precisar los resultados obtenidos.

Que la PUCESE instale un laboratorio con tecnología de punta en ecotoxicología que permita realizar estudios de toxicidad aguda y crónica en agua con contaminantes que se generen en las actividades minera y palmicultora presentes en el norte de la provincia de Esmeraldas.

Realizar un estudio exhaustivo sobre el consumo de pescado y el nivel de contaminantes en carne de pescado de los ríos del norte de la provincia que nos permitan conocer las especies que están contaminadas y las que no.

Informar a los pobladores de esta zona que no deben consumir el Barbudo y la Canchimala, y a los vendedores que no deben expender estos productos.

Tomar como base el límite permisible de mercurio calculado en la regulación de expendio de pescado en el país y promover una política de Salud Alimentaria.

BIBLIOGRAFÍA.

- Alcaraz, G., Badillo, M., & Vanegas, C. (2008). *Ensayo de toxicidad aguda con el pez *Xiphophorus montezumae**. México.
- Almaguer, V. (2011). *Diseño y evaluación de un reactor en columna a escala bench para la remoción de metales pesados utilizando la proteína Quimérica Metalotioneína-Tioredoxina*. Obtenido el 4 de Junio del 2012, de <http://eprints.uanl.mx/id/eprint/3010>.
- American Public Health Asociation, American Water Works Asociation, Water Pollution Control Federation. (1992). *Métodos normalizados paara el análisis de aguas potables y residuales*. Madrid, España: Díaz de Santos.
- Analytyka. Reactivos y Materias Primas Especiales. (2013). *FDS Ficha de Datos de Seguridad*. Recuperado el 30 de Mayo de 2013, de <http://www.analytyka.com.mx/spanish/FDS/M/141419.htm>
- Angenault, J. (1998). *Diccionario Enciclopédico de Química*. México: Continental, S.A de C.V.
- Brack, A., Ipenza, C., Álvarez, J., & Sotero, V. (2011). *Minería Aurífera en Madre de Dios y Contaminación con Mercurio-Una Bomba de Tiempo* (Primera ed.). Lima: Ministerio del Ambiente.
- Broussard, L., Hammet-Stabler, C., Winecker, R., & Roper-Miller, J. (2002). The Toxicology of Mercury. *laboratorymedicine*, 33(8), 614-625.
- Brown, T., LeMay, H., & Bursten, B. (1998). *Química: La ciencia central* (Séptima ed.). México: PRENTICE HALL.
- Capó, M. (2007). *Principios de Ecotoxicología*. Madrid: TÉBAR, S.L.
- Carlo Erba Reagenti. (2010). *Ficha de datos de seguridad*. Italia.

- Cordero, J., Guevara, M., Morales, E., & Lodeiros, C. (2005). Efecto de metales pesados en el crecimiento de la microalga tropical *Tetraselmis chuii* (Prasinophyceae). *Rev.Biol.Trop*, 53(3-4), 325-330.
- Ecuador. Ministerio del Ambiente. Registro Oficial N° 725. (2003). *Texto Unificado de Legislación Ambiental y Secundaria*. Quito: Editora Nacional.
- Ecuador. Registro Oficial N° 690. (2002). *Reglamento a la ley de pesca y desarrollo pesquero*. Quito: Editora Nacional.
- Ecuador. Suplemento del registro oficial N°67. (2009). *Reglamento del Régimen Especial de Pequeña Minería y Minería del Ecuador*. Quito: Editora Nacional.
- ENAMI-EP. (2012). *Programa de remediación ambiental temporal emergente "Pasivos ambientales al interior de las concesiones minera de la ENAMI-EP"*. Quito.
- EPA. (2002). *National recommended water quality*. Obtenido el 1 de Septiembre del 2013 de: <http://www.epa.gov/>.
- EPA. (2003). *Guía para el ciudadano sobre Tratamiento con Carbón Activado*. Obtenido el 20 de Agosto del 2013 de: www.epa.gov/superfund/sites.
- EPA. (2010). *Guidance for Implementing the January 2001 Methylmercury Water Quality Criterion*. Obtenido el 30 de enero del 2013 de: www.epa.gov/waterscience.
- EPA. (2011). *Lista de Sustancias IRIS*. Recuperado el 12 de Agosto de 2013, de El metilmercurio (MeHg) (Número CAS 22967-92-6): <http://www.epa.gov/iris/subst/0073.htm>
- Estudios Mineros del Perú S.A.C. (2006). *Manual de Minería*. Obtenido el 5 de Enero del 2012, de <http://www.estudiosmineros.com>.
- FAO. (2012). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura*. Roma: Disponible en: www.fao.org/icatalog/inter-e.htm.

- FAO. (2013). *Nutrición y alimentación de los peces*. Obtenida el 29 de enero del 2013, de http://www.fao.org/corp/google_result/es/?cx=018170620143701104933%3Apvqiwqrhhhq&q=nutricion+y+alimentaci%C3%B3n+de+peces&cof=FORID%3A9.
- FLACSO-MIPRO. (2011). *Boletín mensual de análisis sectorial de MYPYMES. Enlatados de productos del mar (R4)*. Disponible en: <http://www.flacso.org.ec/portal/pnTemp/PageMaster/ydymiy33b05x15okzvtvgysqc8hjzz.pdf>.
- GENCAT. (2007). *Contaminantes químicos en pescado y marisco consumido en Cataluña*. Unión Europea.
- Grupo Prevenir. (2011). *Prevención de Riesgos Laborales*. Recuperado el 30 de Mayo de 2013, de <http://www.grupoprevenir.es/fichas-seguridad-sustancias-quimicas/0982.htm>
- Gutiérrez, M. (2004). Implicaciones de la intoxicación por mercurio. *Revista MEDICINA*, 81-85.
- Health & Consumer Protection Directorate-General. (2004). *Methyl mercury in fish and fishery products*. Bruselas: Unión Europea.
- Health Canadá. (2007). *Human Health Risk Assessment of Mercury in Fish and Health Benefits of Fish Consumption*. Obtenido el 1 de Septiembre del 2013 de: <http://www.hc-sc.gc.ca/index-eng.php>.
- Hirt, L., & Domitrovic, H. (2000). *Toxicidad y Respuesta Histopatología en Aequidens portalegrensis (Pisces, Cichilidae) expuestos a blicloruro de mercurio en ensayos de toxicidad aguda y subletales*. Argentina: Instituto de Ictiología del Nordeste, Facultad de Ciencias veterinarias (UNNE).
- HS aqua. (2013). *Producto Procell*. Recuperado el 19 de Mayo de 2013, de <http://www.hsaqua.nl/index.cfm?p=8A5EC7EC-C937-B751-EE698BD1EB386F2E>

- Iannacone, J., & Alvariño, L. (2007). Ecotoxicidad acuática de dos colorantes y de tres antiparasitarios de importancia en acuicultura en *Daphnia magna*. *Ecología Aplicada*, 6(1,2), 102-110.
- Instituto Salud y Trabajo. ISAT. (2002). *Niveles de exposición ambiental, ocupacional y estado de salud de los niños de la comunidad minera artesanal de oro. La Rinconada*. Puno, Perú.
- Lagarto, A., Tillán, J., Vega, R., & Cabrera, Y. (1999). Toxicidad aguda oral de extractos hidroalcohólicos de plantas medicinales. *Rev Cubana Plant Med*, 1(4), 26-28.
- Lemos, A., Soler, A., Lara, D., Albergaria, M., Muñoz, M., & Paco, P. (2011). Valores de Referencia. En OPS/OMS, *Cooperación Técnica entre Brasil, Bolivia y Colombia: Teoría y Práctica para el Fortalecimiento de la Vigilancia de la Salud de Poblaciones Expuestas a Mercurio* (Primera ed., pág. 101). La Paz: OPS/OMS.
- León, M. (2006). *Efecto ecotoxicológico de los detergentes biodegradables en la trucha "Arco Iris" Oncorhynchus mykiss (Walbaun, 1792), en el centro piscícola "El Ingenio"-Huancayo*. Lima: Tesis: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Lourie, B. (2003). *Mercury in the Environment: A Primer*. (W. Glenn, Ed.) Toronto, Canadá: Pollution Probe.
- Magurran, A. (1989). *Diversidad ecológica y su medición*. Ediciones Vedral. Barcelona, España.
- Maldonado, J., Ortega, A., Usma, J., Galvis, G., Villa, F., Vásquez, L., y otros. (2005). *Peces de los Andes de Colombia*. Bogotá: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander van Humboldt.
- Mancera, N., & Álvarez, R. (2006). Estado de conocimiento de las concentraciones de mercurio y otros metales pesados en peces dulceacuícolas de Colombia. *Acta Biológica Colombiana*, 3-23.

- Mendoza-Rodríguez, R. (2007). Toxicidad aguda del cobre (Cu²⁺) en postlarvas de camarón de río *Cryphiops caementarius* (Natantia, Palaemonidae). *Rev. perú. biol.*, 14(1), 53-54.
- Morales, C., & Contreras, L. (2010). *Determinación de la concentración letal media CL50/48 de selenio y bario mediante bioensayos de toxicidad acuática sobre Daphnia púlex*. Bogota D. C.: Universidad del Valle.
- Moreno, C. (2001). *Métodos para medir la biodiversidad*. M&T - Manuales y Tesis EA, vol. 1. Zaragoza, España.
- Muñoz, E., & Palacio, J. (2010). Efectos del cloruro de mercurio sobre la sobrevivencia y crecimiento de renacuajos de *Dendrosophus bogerti*. *Actual Biol*, 32(93), 189-197.
- Oficina Internacional de Trabajo. (1998). *Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo*. Madrid.
- Peluso, M. (2011). *Evaluación de efectos biológicos y biodisponibilidad de contaminantes en sedimentos del Río de la Plata y afluentes*. La Plata: Tesis doctoral: Universidad Nacional de la Plata.
- Peña, C., Carter, D., & Ayala, F. (2001). *Toxicología Ambiental: Evaluación de Riesgos y Restauración Ambiental*. Obtenido el 27 de Agosto del 2012, de Southwest Hazardous Waste Program: <http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/>.
- Pérez, R., Pineda, R., & Medina, M. (2007). Integridad biótica de ambientes acuáticos. En Ó. Sánchez, M. Herzig, E. Peters, R. Márquez, & L. Zambrano (Edits.), *Perspectivas sobre conservación de ecosistemas acuáticos en México* (Primera ed., pág. 294). México: Instituto Nacional de Ecología.
- PNUMA. (2005). *Evaluación mundial sobre el mercurio*. Ginebra, Suiza.
- Posada, M., & Arroyave, M. (2006). Efectos del mercurio sobre algunas plantas acuáticas. *Revista EIA*(6), 57-67.

- PRAS-CID-PUCESE. (2011). *Informe de valoración de pasivos socio ambientales vinculados a la actividad minera aurífera ilegal en el norte de Esmeraldas*. Esmeraldas.
- PRAS-CID-PUCESE. (2012). *Informe final de monitoreo de calidad ambiental de ríos de la cuenca del Santiago afectados por la actividad minera aurífera entre el período de Noviembre del 2011 a Noviembre del 2012*. Esmeraldas: Informe no publicado.
- Programa Nacional de Riesgos Químicos. (2008). *Mercurio: Cartilla de Información*. Buenos Aires: Ministerio de Salud de la Nación.
- Saldaña, P., Lerdo, A., Gómez, M., & López, R. (2002). La Importancia de incluir análisis de toxicidad en descargas industriales y municipales que afectan los cuerpos receptores. *Congreso Nacional Ingeniería Sanitaria y Ciencias Ambientales*, (págs. 17-20). Guanajato.
- Sarikaya, S., Karcioğlu, O., Ay, D., Cetin, A., Aktas, C., & Serinken, M. (2010). Acute mercury poisoning: a case report. *BMC Emergency Medicine*, 10(7), 1-3.
- SENAGUA. (2010). *Muestreo de la calidad del agua en la cuenca del río Cayapas, provincia de Esmeraldas, en los cantones de Eloy Alfaro y San Lorenzo*. Esmeraldas.
- SENAGUA, MAE y PUCESE. (2011). *Evaluación ambiental de los cantones Eloy Alfaro y San Lorenzo*. Esmeraldas.
- Silva, J., Fuentealba, C., Bay-Schmith, E., & Larrain, A. (2007). Standardization of the acute toxicity bioassay with *Diplodon chilensis* using a reference toxicant. *Gayana*, 71(2), 135-141.
- Sirén, A. (2011). *El consumo de pescado y fauna acuática silvestre en la amazonía ecuatoriana*. COPESCAL Documento Ocasional. No 12. Roma: FAO.
- SPSS Inc. 1989. (2011). *IBM SPSS Regression 20*. Obtenido de: ftp://public.dhe.ibm.com/software/analytics/spss/documentation/statistics/20.0/es/client/Manuals/IBM_SPSS_Regression.pdf.

- Torres, B. (2010). *Aplicación de la impedancimetría electroquímica para el seguimiento en tiempo real del crecimiento y actividad de bacterias con resistencia a compuestos mercuriales*. Mérida, Yucatán: Universidad Autónoma de Yucatán .
- UNIÓN EUROPEA. (2006). *Reglamento (CE) No 1881/2006 de la comisión de 19 de diciembre de 2006 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios*. Disponible en: http://europa.eu/legislation_summaries/food_safety/contamination_environmental_factors/121290_es.htm.
- Valle, P., & Lucas, B. (2000). *Toxicología de alimentos*. México, D.F.: Instituto Nacional de Salud Publica.
- WHO y UNEP. (2008). *Guidance for identifying populations at risk from mercury exposure*. Obtenido el 22 de abril del 2012 de: <http://www.who.int/foodsafety/publications/chem/mercury/en/>.
- Zorrilla, M. (2011). *Estado del arte sobre la presencia de metales pesados en tejidos y agallas de peces*. Santiago de Cali: UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE OCCIDENTE.

ANEXOS

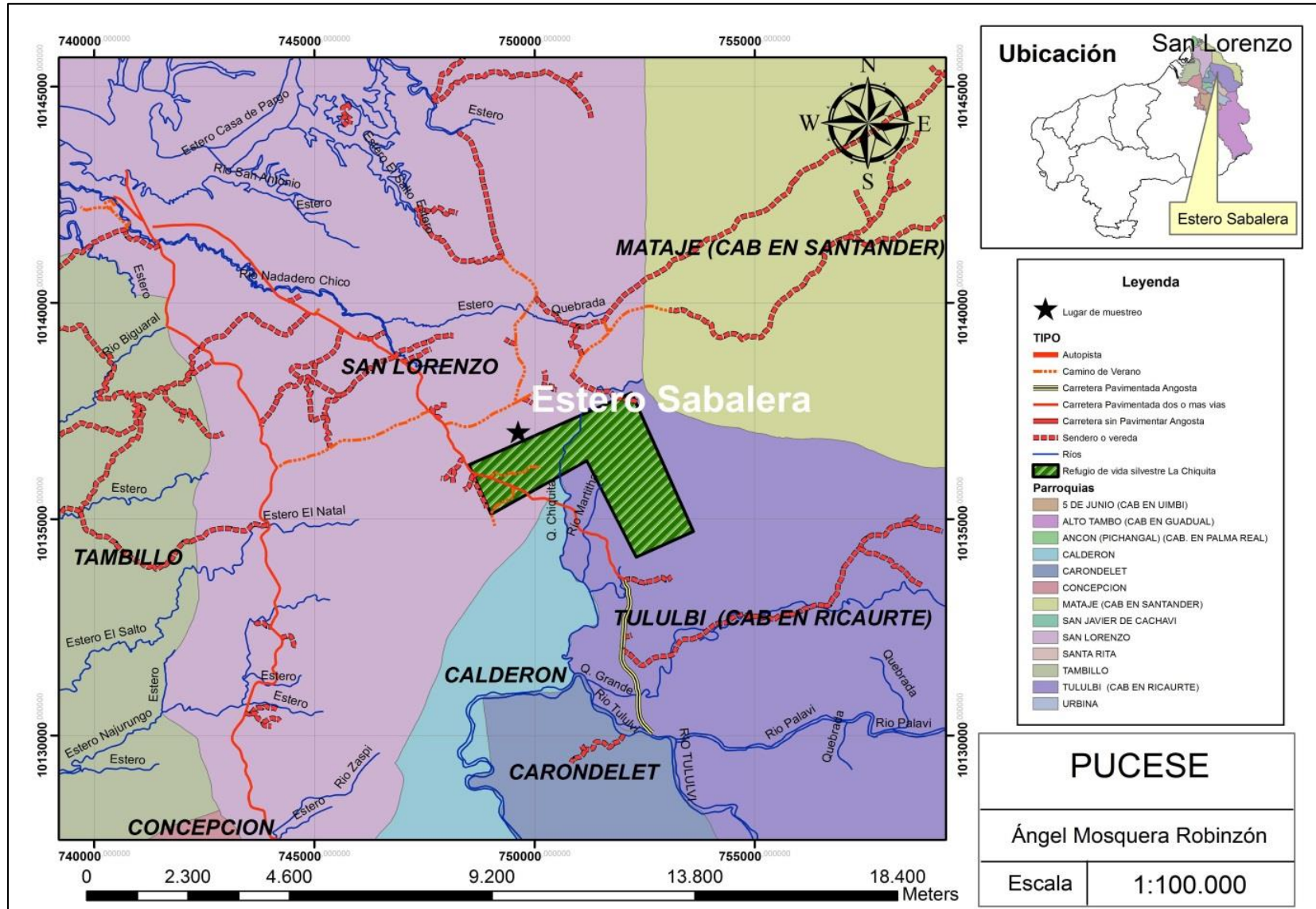
Anexo #1: Talla y peso de las guañas sometidas al proceso de aclimatación.

Pecera 1			Pecera 2			Pecera 3			Pecera 4		
Nº	Talla (cm)	Peso (g)	Nº	Talla (cm)	Peso (g)	Nº	Talla (cm)	Peso (g)	Nº	Talla (cm)	Peso (g)
1	8,2	6,8	1	8,3	5,9	1	9,4	8,1	1	9,4	10,3
2	11,1	14,1	2	7,9	5,3	2	9,7	8,4	2	9,8	12,1
3	9,3	7,3	3	9,4	9,3	3	8	5,4	3	9,9	12,4
4	10,4	12,6	4	9,4	8,7	4	9,5	8,5	4	10,5	13,1
5	10	10,4	5	9,5	9,4	5	9	7,4	5	9,7	11,6
6	9,9	10,8	6	8,2	6,5	6	8,9	7,1	6	9,5	10
7	7,8	8,7	7	8,9	7,5	7	8,5	7,5	7	11,2	13
8	9,5	9,3	8	10,6	10,8	8	9	7,7	8	10	12,7
9	9,7	9	9	9	7,5	9	10,1	7	9	9,8	10
10	7,9	5,8	10	9,7	10,4	10	8,6	10,6	10	8,5	7,2

Pecera 5			Pecera 6			Pecera 7			Pecera 8		
Nº	Talla (cm)	Peso (g)	Nº	Talla (cm)	Peso (g)	Nº	Talla (cm)	Peso (g)	Nº	Talla (cm)	Peso (g)
1	9,7	9	1	9,2	9,2	1	10,1	10,4	1	9,4	8,6
2	9,5	8,8	2	8,5	5,8	2	10,9	12,5	2	10,7	11,2
3	9,4	8,1	3	9	8,3	3	8,7	5,4	3	10,5	10,7
4	10	11,5	4	9,6	9,5	4	9,1	9	4	10,1	11,1
5	8,4	7,1	5	9,7	9,3	5	8,1	6	5	9,9	10
6	10	9,2	6	9,4	8,94	6	11,2	13,7	6	11,3	15,4
7	8,8	6,5	7	9,5	8,3	7	9,4	8,9	7	10,4	11,1
8	9,1	7,6	8	10,9	11,9	8	9,9	9,6	8	9,2	7,6
9	9,6	8,4	9	10,4	10,5	9	10,1	10,3	9	9,7	9,9
10	10,6	12,4	10	9,9	10,7	10	8,8	7,8	10	8,7	6,8

Pecera 9			Pecera 10			Pecera 11		
Nº	Talla (cm)	Peso (g)	Nº	Talla (cm)	Peso (g)	Nº	Talla (cm)	Peso (g)
1	8	9,6	1	8,6	6,2	1	9,4	9,4
2	9,1	8,2	2	10,5	13	2	8,5	7
3	8,2	6,1	3	9,2	8,1	3	10	10,8
4	9	6,7	4	9,7	6,7	4	10,5	11,7
5	10,8	13,7	5	10,6	11,6	5	11	15,1
6	9	6,9	6	9,5	9,1	6	8,4	7,1
7	9,3	9,2	7	8,9	7,4	7	9,1	8,4
8	8,9	7	8	8,8	7,2	8	8,2	5,3
9	9	8,2	9	8,7	7,5	9	8	6
10	8,9	7,5	10	9,2	8,7	10	9,1	7,8

Anexo #2: Mapa de ubicación del estero Sabalera.



Anexo #3: Talla y peso de las chalas utilizadas en la prueba de toxicidad aguda.

Pecera 1			Pecera 2			Pecera 3			Pecera 4		
Nº	Talla (cm)	Peso (g)	Nº	Talla (cm)	Peso (g)	Nº	Talla (cm)	Peso (g)	Nº	Talla (cm)	Peso (g)
1	3,40	0,90	1	4,10	1,90	1	4,70	2,50	1	3,90	1,50
2	4,90	2,50	2	4,50	2,20	2	3,90	1,50	2	4,70	2,60
3	3,70	1,20	3	4,30	2,00	3	3,90	1,50	3	4,90	2,80
4	4,40	2,00	4	3,60	1,10	4	4,50	2,20	4	4,40	2,00
5	4,00	1,60	5	3,70	1,20	5	3,80	1,20	5	4,90	2,90
6	3,80	1,20	6	4,00	1,60	6	4,90	3,00	6	4,90	3,00
7	4,10	1,80	7	4,90	2,90	7	3,60	1,10	7	4,80	2,60
8	3,70	1,10	8	4,90	2,90	8	4,90	2,80	8	4,80	2,60
9	4,90	2,90	9	3,60	1,10	9	4,90	2,90	9	3,90	1,50
10	4,50	2,00	10	4,40	2,00	10	3,80	1,20	10	4,50	2,00

Pecera 5			Pecera 6			Pecera 7			Pecera 8		
Nº	Talla (cm)	Peso (g)	Nº	Talla (cm)	Peso (g)	Nº	Talla (cm)	Peso (g)	Nº	Talla (cm)	Peso (g)
1	4,80	2,60	1	4,00	1,70	1	4,80	2,70	1	4,10	1,80
2	4,90	3,00	2	3,50	1,10	2	3,50	1,10	2	3,60	1,10
3	3,70	1,20	3	4,40	2,00	3	3,60	1,10	3	4,60	2,20
4	4,90	2,90	4	4,70	2,60	4	4,00	1,60	4	4,30	2,00
5	4,50	2,00	5	4,70	2,60	5	4,50	2,00	5	3,40	1,00
6	4,80	2,60	6	3,80	1,30	6	4,90	2,90	6	4,80	2,70
7	4,30	2,00	7	4,90	2,90	7	4,50	2,00	7	4,80	2,60
8	3,60	1,10	8	4,90	2,90	8	4,00	1,60	8	4,20	1,90
9	4,90	3,10	9	4,80	2,70	9	3,90	1,50	9	4,00	1,60
10	3,90	1,50	10	4,40	2,00	10	4,00	1,70	10	3,70	1,20

Pecera 9			Pecera 10			Pecera 11		
Nº	Talla (cm)	Peso (g)	Nº	Talla (cm)	Peso (g)	Nº	Talla (cm)	Peso (g)
1	3,60	1,10	1	4,20	1,90	1	4,80	2,70
2	4,50	2,00	2	4,90	2,80	2	3,60	1,10
3	3,70	1,20	3	4,30	2,00	3	3,80	1,20
4	3,70	1,20	4	3,90	1,50	4	4,10	1,80
5	4,10	1,80	5	4,30	2,00	5	4,70	2,50
6	4,90	2,80	6	3,40	1,00	6	3,90	1,50
7	4,50	2,00	7	4,90	2,90	7	4,60	2,20
8	3,60	1,20	8	3,80	1,20	8	3,80	1,20
9	4,10	1,90	9	4,00	1,60	9	4,90	2,80
10	4,80	2,70	10	3,50	1,00	10	4,70	2,50

Anexo #4: Concentración de Biclورو de Mercurio requerida para la prueba de toxicidad en caso de haber utilizado este químico.

Para determinar los miligramos de Biclورو de Mercurio que se necesitan para obtener las concentraciones requeridas en cada pecera se utilizó la siguiente fórmula:

$$CMR = \frac{CP \times VP \times \text{masa molar de HgCl}_2}{\text{Pureza} \times \text{masa molar de Hg}}$$

Dónde:

CMR es la cantidad de mercurio requerida en miligramos

CP es la concentración pretendida de mercurio en gramos/litros

VP es el volumen a utilizarse en las peceras (40 L)

Masa molar de HgCl₂ = 271,2 g

Pureza= 0,99

Masa molar de Hg= 200,59 g

	Unidad	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11
CP	mg/L	0.001	0.005	0.025	0.125	0.625	0.001	0.005	0.025	0.125	0.625	0.000
VP	L	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
CMR	mg	0,05	0,25	1,25	6,25	31,25	0,05	0,25	1,25	6,25	31,25	0,00

Anexo #5: Concentración de Sulfato de Mercurio requerida para la prueba de toxicidad en caso de haber utilizado este químico.

Para determinar los miligramos de Sulfato de Mercurio que se necesitan para obtener las concentraciones requeridas en cada pecera se utilizó la siguiente fórmula:

$$CMR = \frac{CP \times VP \times \text{masa molar de HgSO}_4}{\text{Pureza} \times \text{masa molar de Hg}}$$

Dónde:

CMR es la cantidad de mercurio requerida en miligramos

CP es la concentración pretendida de mercurio en gramos/litros

VP es el volumen a utilizarse en las peceras (40L)

Masa molar de $\text{HgCl}_2 = 296,68 \text{ g}$

Pureza= 0,99

Masa molar de Hg= 200,59 g

	Unidad	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11
CP	mg/L	0.001	0.005	0.025	0.125	0.625	0.001	0.005	0.025	0.125	0.625	0.000
VP	L	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
CMR	mg	0,06	0,30	1,50	7,50	37,50	0,06	0,30	1,50	7,50	37,50	0,00

Anexo #6: Certificado de calidad del mercurio estándar entregado por el laboratorio de donde se obtuvo el químico.



CERTIFICATE OF ANALYSIS

AccuTrace™ Reference Standard

Item Number: AA34N-1

Element: Mercury
Storage Condition: Ambient
Hazards: CORROSIVE
Matrix: 2-5% Nitric acid

Lot: 212075009
Date Certified: 7/11/2012
Expiration: Jul / 2017
Sample Size: 100 mL

Included on ISO/IEC 17025 Scope of Accreditation

Included on ISO Guide 34 Scope of Accreditation

Actual Lot Analysis

Mercury 1000 µg/mL

The gravimetric uncertainty for this product is $\pm 0.24\%$. The CRM uncertainty is $\pm 5\%$. See reverse side for details.

The concentration of the final solution was verified by ICP against NIST SRM# 3133

RESULTS: This solution standard was certified for accuracy of major elemental consistency via methodology traceable to primary or well characterized secondary standards. All trace level elements and impurities were determined via plasma emission spectroscopy on the concentrate.

This standard was prepared gravimetrically to contain the elemental concentrations shown above. Balances, used in the preparation, are calibrated regularly using NIST-traceable weights. All glassware is Class A.

Use good laboratory procedure when diluting this product. Shake bottle prior to use and do not pipette directly out of the bottle. Use only cleaned Class A volumetric glassware.

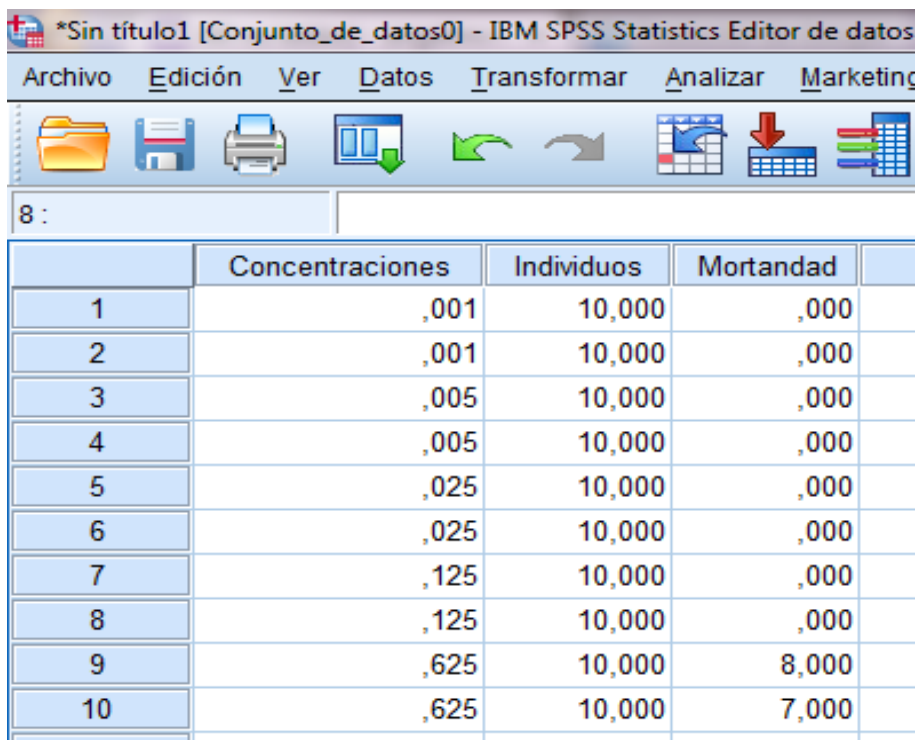
We certify the accuracy of this standard to be $\pm 0.5\%$ of the stated value until the expiration date listed above, provided it is kept tightly capped and stored under normal laboratory conditions.

For use in routine laboratory analysis.

Lydia Snyder
Inorganic QC Supervisor

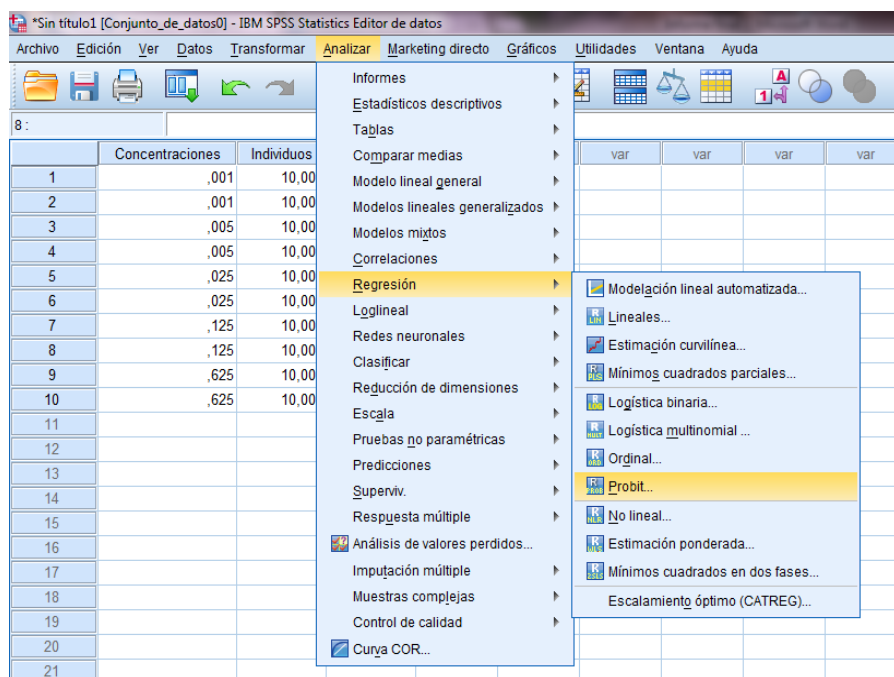
**Anexo #7: Pasos a seguir en el programa SPSS para la determinación de la
LC₅₀.**

Paso 1: Ordenar los datos de la siguiente manera:

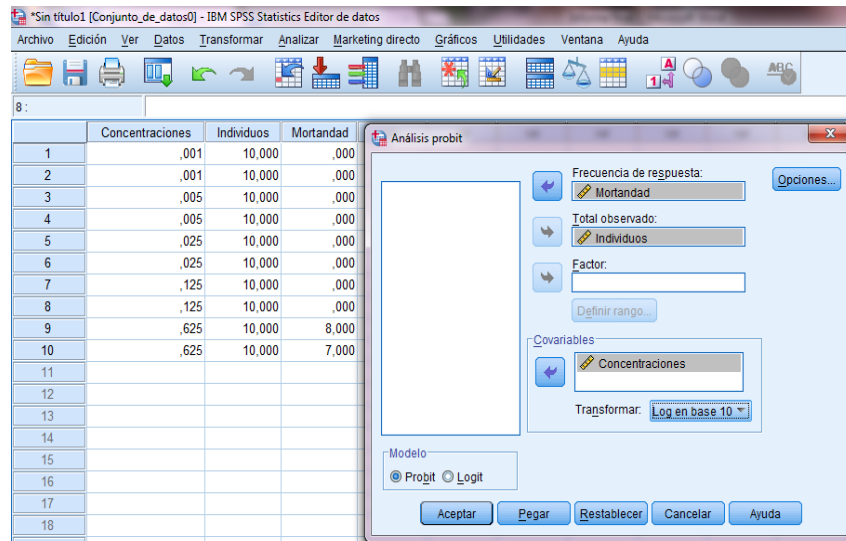


	Concentraciones	Individuos	Mortandad
1	,001	10,000	,000
2	,001	10,000	,000
3	,005	10,000	,000
4	,005	10,000	,000
5	,025	10,000	,000
6	,025	10,000	,000
7	,125	10,000	,000
8	,125	10,000	,000
9	,625	10,000	8,000
10	,625	10,000	7,000

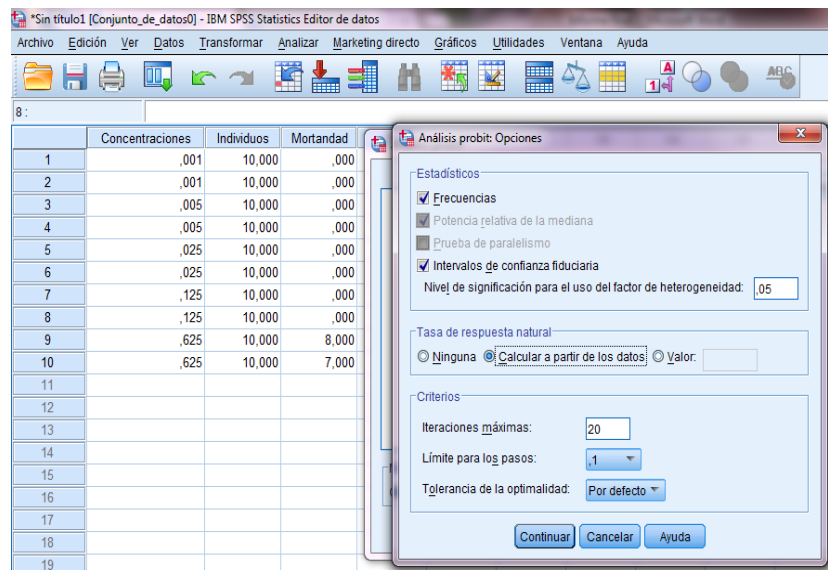
Paso 2: En la opción analizar en el ítem regresión dar clic en análisis probit.



Paso 3: En la ventana de análisis probit agrupar las variables como se explica a continuación:



Paso 4: En la misma ventana dar clic a opciones y ordenar los caracteres de la siguiente manera:



Paso 5: Pulsar “Continuar” y después “Aceptar”.

Anexo #8: Encuesta realizada para determinar el consumo de pescado en el norte de Esmeraldas.

ENCUESTA PARA LA ESTIMACIÓN DE CONSUMO DE PESCADO EN EL NORTE DE LA PROVINCIA DE ESMERALDAS

Sexo:..... Edad:..... Número de personas en el hogar.....

1. ¿Con qué frecuencia consume pescado?

Todos los días..... 3 veces por semana.... 1 vez a la semana..... Nunca.....

2. ¿Cuántas libras de pescado compra/pesca a la semana?

Compra (Marinos)	Pesca (Río)
Día	Día
Semana	Semana

3. De dónde obtiene el pescado que consume.

Mercado..... Río..... Tienda..... Ferias..... Comerciantes ambulantes.....

4. ¿Cuál de los siguientes pescados prefiere consumir?

Guaña		Espalda de vieja		Mantequero	
Chala		Guanchiche		Vieja Azul	
Cagua		Barbudo		Engraulido Amarillo	
Baboso		Curuco			
Canchimala		Cherre			

5. Ud. considera que el río que cruza frente a su comunidad está contaminado.

Si..... No.....

6. ¿Qué actividades considera que son las causantes de la contaminación del río?

Agricultura..... Palmicultura..... Ganadería..... Minería.....
 Transporte..... Asentamiento Humanos..... Tala de árboles.....

7. Siente que las autoridades se preocupan por la calidad de los peces que consume.

Si..... No.....

Porque.....

8. ¿Qué tipo de enfermedades ha sufrido en el último año?

.....

Anexo #9: Niveles de mercurio en agua registrados en 25 puntos de muestreo del norte de Esmeraldas.

Localidad	Concentración de mercurio en mg/l		
	Noviembre del 2011	Mayo del 2012	Julio del 2012
Palabí	<0,0001	<0,001	<0,0001
San Javier de Cachaví	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Tululbí	<0,0001	<0,001	<0,0001
San Francisco del Bogotá	<0,0001	<0,001	<0,0001
La Boca	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Urbina	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Valle de la Virgen	<0,0001		
Playa de Oro	<0,0001		
Selva Alegre	<0,0001		
Maldonado	<0,0001	<0,001	<0,0001
San Agustín	<0,0001	<0,001	<0,0001
Borbón	<0,0001		<0,0001
San Antonio		<0,0001	<0,0001
Playa Nueva		<0,001	<0,0001
Estero El Muerto		<0,001	<0,0001
Estero Angostura		<0,001	
Concepción		<0,0001	<0,0001
Wimbí		<0,0001	<0,0001
Los Ajos		<0,0001	<0,0001
Zapallito			<0,0001
Estero María (Alta)			<0,0001
Las Antonias			<0,0001
Minas Viejas			<0,0001
Cachaví			<0,0001
Unión de Cachaví			<0,0001

Anexo #10: Resultados del laboratorio de las muestras de agua del estero Sabalera y del agua lluvia utilizada en la prueba de toxicidad aguda.



ENSAYOS
No. OAE LE 20 05-008

REPORTE DE ANÁLISIS

Cliente: PUCESE
Espejo y Suñida a Santa Cruz s/n
Tel:503-6-2726613 Ext. 111

Atn: Ing Eduardo Rebolledo

Proyecto: Análisis de Agua

Muestra Recibida: 21-May-13

Tipo de Muestra: 2 Muestras de Agua

Análisis Completado: 29-May-13

Número reporte Grüntec: 1305133-AG001-2

Rotulación Muestra:	MUESTRA 1 RÍO	MUESTRA 2 LLUVIA	Método Adaptado de Referencia
Fecha de Muestreo:	n.d	n.d	
No. Reporte Grüntec:	1305133-AG001	1305133-AG002	
Metales totales:			
Mercurio mg/L ^(1,2)	<0.0001	<0.0001	EPA 8020 A

Registros y Acreditaciones:

⁽¹⁾ Acreditación No. OAE LE 20 05-008

⁽²⁾ Acreditación CALA No. A3154

⁽³⁾ Registro SA / MDMD No. LSA-R-005

Los ensayos marcados con (*) no están dentro del alcance de acreditación del OAE

n.d = No Determinado

Ing. Isabel Estrella

Gerente de Operaciones

Nota 1: Estos análisis, opiniones y/o interpretaciones están basadas en el material e información provistos por el cliente para quien ha realizado este informe en forma exclusiva y confidencial.

Nota 2: La toma de muestras fue realizada directamente por el cliente.

Nota 3: El cliente puede solicitar la fecha de análisis de los parámetros en caso de requerirlo.

Anexo #11: Estimación de las concentraciones de mercurio en función de las unidades probit.

Límites de confianza							
Probabilidad	Límites de confianza al 95% para Concentraciones			Límites de confianza al 95% para log(Concentraciones) ^a			
	Estimación	LI ^b	LS ^c	Estimación	LI	LS	
PROBIT	,010	,135	,008	,247	-,871	-2,111	-,607
	,020	,155	,012	,270	-,811	-1,932	-,569
	,030	,169	,015	,286	-,772	-1,819	-,544
	,040	,180	,018	,298	-,744	-1,733	-,526
	,050	,190	,022	,309	-,720	-1,664	-,510
	,060	,199	,025	,318	-,700	-1,605	-,497
	,070	,208	,028	,327	-,683	-1,554	-,485
	,080	,215	,031	,335	-,667	-1,508	-,475
	,090	,222	,034	,342	-,653	-1,466	-,465
	,100	,229	,037	,350	-,640	-1,428	-,456
	,150	,260	,054	,381	-,586	-1,270	-,419
	,200	,287	,072	,409	-,543	-1,145	-,388
	,250	,312	,091	,437	-,506	-1,040	-,360
	,300	,337	,113	,464	-,473	-,947	-,333
	,350	,362	,138	,493	-,442	-,862	-,307
	,400	,387	,165	,524	-,413	-,783	-,281
	,450	,413	,195	,559	-,384	-,709	-,253
	,500	,440	,230	,600	-,357	-,639	-,222
	,550	,469	,267	,649	-,329	-,573	-,188
	,600	,500	,308	,712	-,301	-,511	-,148
,650	,535	,352	,794	-,271	-,454	-,100	
,700	,574	,398	,907	-,241	-,400	-,042	
,750	,620	,446	1,067	-,208	-,351	,028	
,800	,675	,496	1,304	-,171	-,305	,115	
,850	,745	,551	1,679	-,128	-,259	,225	
,900	,845	,617	2,352	-,073	-,210	,371	
,950	1,016	,714	3,963	,007	-,146	,598	
,990	1,438	,909	10,887	,158	-,041	1,037	

a. Base del logaritmo = 10.
b. LI = Límite Inferior
c. LS= Límite Superior

Anexo #12: Resultado del análisis del agua de las peceras 4 y 5.



ENSAYOS
No. OAE LE 2C 05-008

REPORTE DE ANÁLISIS

Cliente: PUCESE

Espejo y Salida a Santa Cruz s/n
Telf: 593-6-2726513 Ext. 111

Atn: Ing Eduardo Rebolledo

Proyecto: Análisis de agua

Muestra Recibida: 25-Jun-13

Tipo de Muestra: 2 Muestras de Agua

Análisis Completado: 03-Jul-13

Número reporte Grüntec: 1306274-AG001-2

Rotulación Muestra:	P4	P5	Método Adaptado de Referencia
Fecha de Muestreo:	N/D	N/D	
No. Reporte Grüntec:	1306274-AG001	1306274-AG002	
Metales totales:			
Arsénico mg/L^{(1),(2)}	<0.0005	<0.0005	EPA 8020 A
Mercurio mg/L^{(1),(2)}	<0.0001	0.0004	EPA 8020 A

Registros y Acreditaciones:

⁽¹⁾ Acreditación No. OAE LE 2C 05-008

⁽²⁾ Acreditación CALA No. A3154

⁽³⁾ Registro SA / MDMO No. LEA-R-005

Los ensayos marcados con (*) no están dentro del alcance de acreditación del OAE

n.d. - No Determinado

Ing. Isabel Estrella





Gerente de Operaciones





Nota 1: Estos análisis, opciones y/o interpretaciones están basados en el material e información provistas por el cliente para quien ha realizado este informe en forma exclusiva y confidencial.





Nota 2: La toma de muestras fue realizada directamente por el cliente.

Nota 3: El cliente puede solicitar la fecha de análisis de los parámetros en caso de requerirlo.

Anexo #13: Imágenes de peces mencionados en las encuestas.

	<p>Guaña (<i>Chaetostoma marginatum</i>)</p>
	<p>Chala (<i>Astyanax ruberrimus</i>)</p>
	<p>Cagua (<i>Gobiomorus maculatus</i>)</p>
	<p>Baboso (<i>Awaous banana</i>)</p>

	<p style="text-align: center;">Cherre (<i>Strongylurafluvialis</i>)</p>
	<p style="text-align: center;">Mantequero (<i>Rineloricariajubata</i>)</p>
	<p style="text-align: center;">Vieja (<i>Cichlasomafestae</i>)</p>
	<p style="text-align: center;">Espalda de Vieja (<i>Roebooidesoccidentalis</i>)</p>

	<p>Guanchichero (<i>Hoplasmalabaricus</i>)</p>
	<p>Barbudo (<i>Pimelodella</i> cf. <i>modestus</i>)</p>
	<p>Curruco (<i>Hemiancistrus</i> sp.)</p>
	<p>Engraulido Amarillo (<i>Anchoa spinifer</i>)</p>



Canchimala
(Cathoropssp.)