



Universidad Austral de Chile

Facultad de Ciencias
Escuela de Biología Marina

**PROFESOR PATROCINANTE:
MSc. HERNÁN PALMA-FLEMING
INSTITUTO DE QUÍMICA**

**“DETERMINACIÓN DE HIDROCARBUROS TOTALES DE PETRÓLEO
(TPH-DIESEL) EN CHORITOS *Mytilus chilensis* (HUPE, 1854) DE LA BAHÍA DE
CORRAL Y SITIOS ALEDAÑOS”**

Tesis de Grado presentada como
parte de los requisitos para optar
al Título de Biólogo Marino

CLAUDIA ANDREA CAMPILLAY ZÚÑIGA

VALDIVIA – CHILE

2006

A mis Padres y Hermanos

*“Porque Jehová da la sabiduría,
Y de su boca viene el conocimiento
y la inteligencia”*

Proverbios: 2:6

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por estar conmigo en todo momento y sobre todo en estos años de estudio.

A mis profesores, a Hernán Palma por su paciencia, comprensión y ayuda en la realización de mi tesis. Al MSc. Alejandro Bravo y Dr. Eduardo Quiroz, por su paciencia y dedicación en revisar este trabajo.

A la Ilustre Municipalidad de Corral, por su ayuda financiera otorgada a través del convenio UACH-Ilustre Municipalidad de Corral 2004-2005.

A la Dirección de Investigación y Desarrollo (DID), de la Universidad Austral de Chile, por la ayuda financiera para realizar esta investigación, a través del convenio DID-S200511.

A mis padres por su amor y apoyo incondicional, y a mis hermanos Rodrigo y César por su cariño y apoyo en los momentos más difíciles, a mi prima Gerda por sus consejos oportunos.

A mi familia, como mi tía Ecilda y mis primos por su apoyo y consejos; a mi tía Inés por su cariño y comprensión.

A mi amiga Patricia Echeverría por su amistad incondicional y apoyo en mis años de estudio.

A mi amigo Mauricio Figueroa por su amistad y su ayuda en la realización de mi tesis.

A la tía Rosita por su ayuda, comprensión y paciencia para escuchar todos mis problemas.

INDICE

RESUMEN	6
ABSTRACT	7
1.- INTRODUCCION	8
2.- MATERIAL Y METODOS	13
2.1.- Área de estudio.....	13
2.2.- Toma de muestra.....	13
2.3.- Análisis de las muestras.....	14
2.4.- Limpieza de material.....	17
2.5.- Características generales de los Mitílidos.....	18
2.6.- Índices de evaluación.....	19
2.7.- Análisis estadístico.....	19
3.- RESULTADOS	20
3.1.- Análisis cualitativo.....	20
3.2.- Análisis cromatográfico.....	20
3.3.- Análisis cuantitativo.....	20
3.4.- Análisis lipídico.....	22
3.5.- Índices de evaluación.....	23
3.6.- Análisis estadístico.....	25
4.- DISCUSION Y CONCLUSIONES	27
BIBLIOGRAFÍA	33

ANEXO	37
• Ubicación geográfica	38
• Esquema análisis cualitativo	39
• Esquema análisis cuantitativo	40
• Tablas	41
• Figuras	44
- Gráficos	44
- Cromatogramas	52

RESUMEN

En el presente estudio, se realizó un análisis tanto cualitativo como cuantitativo, para determinar compuestos orgánicos xenobióticos, detectando una huella dactilar o traza de contaminación por hidrocarburos en choritos *Mytilus chilensis*, de la bahía de Corral, provincia de Valdivia, Chile.

Posteriormente, se realizó un análisis cuantitativo, se hizo una extracción Soxhlet, para determinar Hidrocarburos totales de petróleo (TPH-diesel) en muestras de choritos *Mytilus chilensis*.

Los extractos de las muestras se analizaron por cromatografía de gas (GC-MS), los cromatogramas presentaron curvas típicas de hidrocarburos medianos (diesel y kerosene).

Los TPH encontrados en los choritos, presentaron niveles de concentración alta que van desde 30 mug TPH/g b.s hasta 287 mug TPH/g b.s. Los mayores niveles se presentaron en los tres muestreos, pero en estaciones puntuales como Las Coloradas (LC2) y La Escuelita (E2 y E3).

La presencia de los hidrocarburos totales de petróleo (TPH-diesel), hace sospechar que es de origen petrogénico, por la presencia de la mezcla compleja sin resolver (UCM), en los cromatogramas de cada muestra, indicando contaminación por petróleo, probablemente por derrames de combustible por el transporte fluvial que transitan por el río Valdivia, río Tornagalones y la bahía de Corral.

ABSTRACT

In the present study the presence of xenobiotics in the mussel *Mytilus chilensis* from the Corral Bay area, Valdivia, South-Central Chile were carried out. Hydrocarbon fingerprints were detected and total petroleum hydrocarbons (TPH-diesel) were quantified in samples from four sites, Las Canteras, Punta Castillito, Las Coloradas, and La Escuelita.

Sample extracts were analyzed by gas chromatography coupled to a mass selective detector (GC-MSD) and chromatograms showing unresolved complex mix (UCM), typical of medium hydrocarbons (diesel and kerosene) were obtained from samples collected from three campaigns, January 2004, September 2005 and January 2005. TPH concentration levels ranged from c.a. 30 to 287 mug/g dry weight and the highest concentration were found in samples collected from Las Coloradas and La Escuelita.

The analyzed hydrocarbons resulted to be a mixture of components with an important petrogenic input accompanied of hydrocarbons of biogenic origin, as demonstrated by the pristane/phenanthrene ratio >1 and the UCM observed in each chromatogram. It is suspected that the TPH, whose presence may be due to intentional or unintentional spills, could be responsible for the mortality of *Mytilus chilensis* from the Corral Bay area.

1.- INTRODUCCION

Los términos hidrocarburos totales de petróleo (abreviados TPH en inglés) se usan para describir una gran familia de varios cientos de compuestos químicos originados de petróleo crudo. El petróleo crudo es usado para manufacturar productos de petróleo, los que pueden contaminar el ambiente. Debido a que hay muchos productos químicos diferentes en el petróleo crudo y en otros productos de petróleo, no es práctico medir cada uno en forma separada. Sin embargo, es útil medir la cantidad total de TPH en un sitio.

Los TPH son una mezcla de productos químicos compuestos principalmente de hidrógeno y carbono, llamados hidrocarburos. Los científicos han dividido a los TPH en grupos de hidrocarburos de petróleo que se comportan en forma similar en el suelo o el agua. Estos grupos se llaman fracciones de hidrocarburos de petróleo. Cada fracción contiene muchos productos químicos individuales (USEPA, 2005).

Los hidrocarburos y sus derivados son sustancias de alto peso molecular, insolubles en agua, que resultan muy tóxicos para los organismos vivos. Químicamente, el petróleo está formado por una mezcla compleja de hidrocarburos, compuesto de carbono e hidrógeno, y en menor cantidad nitrógeno, azufre y oxígeno, así como trazas de metales. Su configuración es compleja por la capacidad del átomo de carbono para formar cadenas o ciclos, existiendo así cuatro tipos de hidrocarburos: saturados (alcanos y ciclo alcanos), aromáticos, asfálticos (Colwell & Walter, 1977). Los hidrocarburos con bajo peso molecular son gases, mientras los de alto peso molecular son líquidos o sólidos a temperatura ambiente (Madigan *et al.*, 1999).

Algunas sustancias químicas que pueden encontrarse en los TPH incluyen hidrocarburos de aproximadamente C₆ a C₃₀ de número par de carbonos lineales y ramificados, BTEX (benceno, tolueno y xilenos), hidrocarburos aromáticos polinucleares. Sin embargo, es probable que muestras de TPH contengan solamente algunas, o una mezcla de estas sustancias químicas (USEPA, 2005).

El origen de estos hidrocarburos en el medio ambiente es muy diverso, aunque básicamente podemos diferenciar tres fuentes distintas:

- Origen Piroclítico, procedente de la combustión incompleta de la materia orgánica, reciente o fósil, bien por causas naturales (incendios de bosques, erupciones volcánicas, etc.) o antropogénicas (utilización de combustibles fósiles, incineración de residuos, emisiones de vehículos, procesos industriales de gasificación y licuefacción del carbón, "cracking" del petróleo, etc.). Predominan los compuestos no alquilados sobre sus alquilhomólogos.

- Origen Petrogénico, producido por vertidos accidentales o intencionados de derivados del petróleo.

- Origen Biogénico, son producidos por la biodegradación de plantas vasculares, algas, animales o bacterias (Lavarías *et al.*, 2005).

Los derrames de petróleo y sus derivados en el ámbito mundial han provocado una severa contaminación del suelo y de los cuerpos de agua. Estos compuestos son tóxicos para los seres vivos ya que son mutagénicos y cancerígenos (Flores, 2001)

La contaminación por petróleo se caracteriza por su persistencia en el ecosistema, a pesar de los procesos de degradación natural y/o antrópica a que puedan ser sometidos. Los estudios recientes en la zona de Alaska (Carls *et al.*, 2001), donde

ocurrió el derrame del Exxon Valdez, muestran concentraciones medias anuales de hasta 62,258 mug/g de hidrocarburos totales (base húmeda) en sedimentos del área. Otra prueba de la persistencia de estos contaminantes es que los perfiles de concentración obtenidos en columnas de sedimentos han servido como archivos naturales para la reconstrucción de descargas históricas antropogénicas (Santschi *et al.*, 2001), lo cual resulta importante para evaluar el éxito de medidas recientes de control de la contaminación.

En estudios realizados en las zonas costeras colombianas se han encontrado concentraciones de hidrocarburos aromáticos y alifáticos en aguas, sedimentos y organismos marinos en todo el Caribe colombiano, desde Castilletes hasta Urabá (Garay y Bermúdez, 1995; Garay, 1996; Garay y Castro, 1992; Garay *et al.*, 2001).

Por otro lado en sedimentos, los mayores valores encontrados para hidrocarburos totales han sido en promedio de 500 mug/g en la Bahía de Cartagena y Hooker en San Andrés. Los organismos (bivalvos) con mayores concentraciones de hidrocarburos totales se reportan en la zona de Cartagena con valores promedio de 30 mug/g, mientras que los más bajos resultan ser los organismos colectados en Bahía Cispatá y la Ciénaga Grande de Santa Marta con valores promedio de 5 mug/g (Garay *et al.*, 2001).

En el Pacífico, en los monitoreos de hidrocarburos disueltos y dispersos realizado por INVEMAR se encontró que, en promedio las concentraciones aumentan progresivamente desde aguas 0,25 mug/L, sedimentos 1,18 mug/g hasta organismos (bivalvos) 7,45 mug/g (Calero & Casanova, 1997; INVEMAR 2000a). Se puede afirmar que existe un alto riesgo para los bivalvos y la salud de quienes los consumen, dada la

relación que, Por cada mug/L de hidrocarburos aromáticos en el agua, se espera encontrar aproximadamente 29,8 mug/g en dichos organismos (Calero & Casanova, 1997).

Palma-Fleming *et al.*, (2004), estudiaron la concentración de HAPs en choritos *Mytilus chilensis* de la bahía de Corral, detectando en sus tejidos niveles del orden del 165 a 877 ng/g durante 1999 y 138 a 166 ng/g durante 2000 en la estación Carboneros y 145 a 446 ng/g durante 1999 y 150 a 389 ng/g durante 2000 para el sector de Puerto Claro, concluyendo que el sistema de la bahía de Corral esta sometido a una carga de hidrocarburos.

De acuerdo, a estas características generales y aplicables al desarrollo humano en la bahía de Corral y sitios aledaños, por lo cual se requiere el estudio de Hidrocarburos totales de petróleo (TPH), en choritos *Mytilus chilensis*.

Según, los antecedentes anteriormente señalados se postula como hipótesis que en la especie *Mytilus chilensis*, provenientes de bancos naturales y cultivos ubicados de la bahía de Corral y sitios aledaños, existen hidrocarburos del petróleo (TPH) y que éstos hidrocarburos tienen un fuerte componente de origen petrogénico.

El presente estudio tiene como objetivo general detectar la presencia, niveles de concentración y variación espacio-temporal de hidrocarburos totales de petróleo (TPH) en *Mytilus chilensis*.

De esta manera, se plantean los siguientes objetivos específicos:

1. Detectar la presencia de TPH en muestras de *Mytilus chilensis* mediante extracción selectiva y análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.
2. Determinar la variación temporal y estacional de estos TPH-diesel en especímenes colectados en cuatro estaciones (Punta Castillito, Las Coloradas, Las Canteras y la Escuelita).
3. Analizar si los niveles de concentración de TPH representan riesgo de toxicidad, de acuerdo a datos informados en la literatura, para la especie *Mytilus chilensis* de la bahía de Corral y sitios aledaños.

2.- MATERIAL Y MÉTODOS

2.1.- Área de Estudio

El sistema estuarial de Valdivia (X Región, 39° 49' S, 73° 18' W) incluye los estuarios de los ríos Valdivia, Cruces, Guacamayo, Tornagaleones, Futa, Angachilla, Cantera, Cau – Cau y Calle Calle, la Ensenada de San Juan y la bahía de Corral. Este estuario es del tipo micromareal positivo; morfológicamente, correspondería a una mezcla entre estuario de ría y uno de planicie inundada; el origen del estuario sería neotectónico (Pino *et al.*, 1994).

Posee una circulación de tipo parcialmente mezclado, aunque ocasionalmente presenta algunas características incipientes de tipo cuña salina (Arcos & Salamanca, 1989).

2.2.- Toma de Muestras

Previamente, se realizó un muestreo en octubre de 2003, el cual se hizo un análisis cualitativo a fin de detectar xenobióticos que pudieran destacar en las cuatro estaciones que a continuación se mencionan.

Se realizaron 3 muestreos, el primero en enero de 2004, un segundo muestreo en septiembre del mismo año, para finalizar con un muestreo en enero de 2005, se consideraron 4 estaciones dentro de la bahía de Corral y en el río Tornagaleones, comenzando en Las Coloradas (LC) (39° 54' 44" S; 73° 19' 55" W), siguiendo con La

Escuelita (E) (39° 53' 13" S; 73° 21' 47" W), Punta Castillito (PC) (39° 53' 34" S; 73° 23' 12" W), y la última Las Canteras (LCAN) (39° 52' 13" S; 73° 22' 44" W) (Fig. 1). La obtención de *Mytilus chilensis* se realizó mediante buceo autónomo. Se tomaron 3 réplicas en cada estación; cada muestra fue llevada al laboratorio donde se desvalvaron y se homogeneizaron con ULTRA – TURRAX, luego fueron sometidas a congelación a 20° C, para su posterior análisis.

2.3.- Análisis de las Muestras

Los análisis cualitativos de las muestras se realizaron según método USEPA SW-846-3570 adaptado por el laboratorio (Fig 2).

Se pesaron 10 g de individuos frescos de *Mytilus chilensis*, previamente homogeneizado, se maceraron con 30 g de sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4), las muestras se colocaron en matraces enlermeyer, se adicionaron 60 mL de diclorometano (Cl_2CH_2) y se agitó por una hora. Luego, el sobrenadante fue trasvasiado con ayuda de una pipeta pasteur y filtrado en un embudo con lana de vidrio con sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4), se repitió el mismo procedimiento por segunda vez. Esta extracción fue reducida a un volumen de 1 mL en rota vapor a 60°C. Luego, se adicionaron 10 mL de hexano y vuelto a reducir aproximadamente a 1 mL en un rota vapor, la muestra se concentró finalmente a 1 mL con flujo suave de nitrógeno (N_2) (99,99 % de pureza); el extracto obtenido de la capa superficial se limpió en una columna de sílica gel (SiO_2) y sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4) y eluído con *n*-hexano. El sistema fue lavado con 20 mL de *n*-hexano (fracción 1), 20 mL de *n*-hexano-diclorometano 8:1 (v/v) (fracción 2) y

20 mL de *n*-hexano-diclorometano 1:1 (v/v) (fracción 3). Estas tres fracciones fueron concentradas a 1,5 mL usando un rota vapor y a 1 mL utilizando nitrógeno (N₂) almacenada en frascos vial.

Posteriormente, 2 μ L de cada una de las muestras fueron analizadas con cromatografía de gas acoplada a un espectrómetro de masas (GC-MS), se utilizó una columna capilar HP – 5MS de 30 m con 0,250 μ m ID y 0,25 μ m de espesor de película. La temperatura de la columna se programó a 60°C (durante 1 min) hasta 300°C (a los 25 min). Se utilizó helio (He) como gas acarreador, a una presión constante de 9,4 psi, flujo de 1,1 mL/min y a una velocidad de 38 cm/seg. La temperatura del inyector se mantuvo a 250°C y el detector a 230°C. La temperatura de la línea de transferencia fue de 325°C. El espectrómetro de masas fue operado en modo SCAN.

Los análisis cuantitativos de las muestras se realizaron según la metodología Granby & Spliid, 1995 adaptado por el laboratorio (Fig 3).

Se tomaron 7g de individuos frescos de *Mytilus chilensis*, previamente homogeneizado, se maceraron con 21 g de sulfato de sodio anhidro (Na₂ SO₄), las muestras se colocaron en un dedal de vidrio aislado con lana de vidrio, se introduce en un aparato Soxhlet para una extracción sólido – líquido, a la muestra se le adicionaron 180 mL de diclorometano (Cl₂ CH₂) de calidad nanogrado (MERK), para ser extraídos por 8 horas (tiempo necesario para completar 40 ciclos de extracción aproximadamente) a una temperatura aproximada de 60° C. Esta extracción fue reducida a un volumen de 1 mL en un rota vapor a 60°C.

Luego, fueron adicionados 10 mL de hexano y saponificados con 50 mL de una solución etanólica de hidróxido de potasio 1 M, manteniéndose esta mezcla bajo reflujo

por 2 horas. La digestión de la extracción fue líquido – líquido con 20 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0,25 M; se realizó una filtración al vacío para eliminar el jabón que se genera al adicionar ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0,5 M, luego el extracto fue transferido a un embudo de decantación y se le aplicaron 25 mL de *n*-hexano dos veces, con el objetivo de separar las capas hidrolizadas de grasa y la fracción superior que contiene los TPH.

La capa superficial fue filtrada en un embudo con lana de vidrio que posee aproximadamente 3 g de sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4) con el propósito de eliminar el excedente de agua que pudiera poseer el extracto, debiendo recuperar 50 mL de fase y fue reducida a un volumen de 1,5 mL con un rota vapor y concentrada a 1 mL con flujo suave de nitrógeno (N_2) (99,99 % de pureza); el extracto obtenido de la capa superficial se limpió en una columna de sílica gel (SiO_2) y sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4) y eluído con *n*-hexano. El sistema se lavó con 20 mL de *n*-hexano (fracción 1), 20 mL de *n*-hexano-diclorometano 8:1 (v/v) (fracción 2) y 20 mL de *n*-hexano-diclorometano 1:1 (v/v) (fracción 3). Estas tres fracciones fueron concentradas a 1,5 mL usando un rota vapor y a 1 mL utilizando nitrógeno (N_2) almacenada en frascos vial, posteriormente se adicionó 100 μL de estándar interno (1-clorooctadecano) y fueron refrigeradas para su posterior análisis cromatográfico.

Además, de las muestras analizadas, se realizó un blanco y 2 spiking, los cuales siguieron los mismos procedimientos que las muestras, pero estos sólo con sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4).

El contenido de TPH para las muestras recolectadas se obtuvo en $\mu\text{g/g}$ base húmeda, el cual fue posteriormente transformado a $\mu\text{g/g}$ base seca.

Luego, se pesaron 2g de cada muestra con su réplica, las cuales fueron colocadas en un recipiente y llevadas a un horno con temperatura constante de 60° C por 24 horas. Cada muestra fue pesada nuevamente para obtener el peso seco.

Además, se obtuvo el porcentaje de lípidos de cada muestra, se peso 5,0 g de muestra, se maceraron con sulfato de sodio anhidro ($\text{Na}_2 \text{SO}_4$), las muestras fueron colocadas en un dedal de vidrio aislado con lana de vidrio, estos fueron introducidos en un aparato Soxhlet para una extracción sólido – líquido, a la muestra se le adicionaron 180 mL de diclorometano ($\text{Cl}_2 \text{CH}_2$) de calidad nanogrado (MERK), para ser extraídos por 8 horas. Luego, la extracción fue reducida a un volumen de 1 mL en un rota vapor a 60°C y secada con flujo suave de nitrógeno (N_2) (99,99 % de pureza), los balones utilizados fueron pesados previamente, para así determinar por diferencia de peso la cantidad de lípidos contenidos en la muestras.

2.4.- Limpieza de material

El material de vidrio, porcelana y de metal, utilizado en el procedimiento, fue sometido a una rutina de limpieza, con el fin de eliminar posibles interferencias que pudieran afectar en los resultados de los análisis.

El material se lavó, con un detergente común y enjuagado con agua corriente, enseguida se lavaron con un detergente neutro “Extran” al 2% y enjuagado nuevamente con agua corriente. Después, el material se colocó en un baño de ultrasonido que contiene una solución de agua más detergente neutro “Extran”, durante 15 minutos.

Posteriormente, fue sacado del baño, enjuagado con agua corriente y luego con agua destilada y es llevado a la estufa a 200° C por 2 horas.

Después, del secado se procedió a lavar con pequeñas porciones de acetona y diclorometano (tres veces), se dejó secar y se cubrió el material limpio con papel aluminio, previamente lavado con acetona y diclorometano para evitar que haya impurezas que puedan interferir en los análisis.

2.5.- Características generales de los Mitílidos

La distribución conocida de los Mitílidos en Chile va desde Iquique (20° S) hasta el Estrecho de Magallanes. Por la costa atlántica alcanza hasta Argentina y Brasil. El chorito forma densos bancos de individuos sobre fondos duros o fondos de fango con un subfondo sólido, al cual se adhieren firmemente por el biso. En fondos cubiertos de fango suele aflorar sólo el tercio posterior de los individuos. El chorito prefiere zonas litorales expuestas a marcadas variaciones de salinidad por influencia de aguas dulces. Así es común encontrarlo en estuarios y fiordos de la región sur y austral de Chile, hasta una profundidad de unos 4 metros. Se alimentan filtrando, por branquias, a las diatomeas, peridíneos y especialmente detritus orgánico arrastrado por los ríos (Lorenzen *et al.*, 1979).

Los sexos están separados; en los machos el manto es crema-amarillento, mientras en las hembras es café-anaranjado. Se ha observado que el desove ocurre entre septiembre y febrero; aparentemente su inicio está relacionado con un alza

estacional de la temperatura por sobre los 11° C. los huevos son fecundados en el seno del agua (Lorenzen *et al.*, 1979).

2.6.- Índices de Evaluación.

Para determinar el posible origen petrogénico o biogénico de los hidrocarburos totales de petróleo en los choritos *Mytilus chilensis*, se emplearon los siguientes índices; C17/Pristano, C18/Fitano evalúan la presencia de petróleo. Valores bajos (<1) de estos índices sugieren la presencia de hidrocarburos de origen biogénico, mientras que valores altos corresponden la presencia de hidrocarburos de origen petrogénico (Lavarías *et al.*, 2005).

Otro índice es el que se observa en los cromatogramas, UCM (mezcla compleja sin resolver), la cual indica contaminación por petróleo (Granby & Spliid, 1995)

2.7.- Análisis Estadístico de las Muestras.

Las muestras fueron estudiadas, a través del programa estadístico Statgraphics Plus. A los datos se hizo una comparación de intrasitios e intersitios con análisis de varianza. Se aplicó ANOVA simple para las muestras homogéneas y Kruskal – Wallis para las que no eran homogéneas.

3.- RESULTADOS

3.1.- Análisis Cualitativo.

En el muestreo realizado en octubre 2003, se determinó la presencia de hidrocarburos totales de petróleo en choritos *Mytilus chilensis*, en las cuatro estaciones anteriormente señaladas.

3.2.- Análisis cromatográfico.

En los cromatogramas del análisis cuantitativo, presentan una curva en forma de campana (Fig.19 y Fig.21) que es representativa de contaminación por hidrocarburos totales de petróleo, denominada mezcla compleja sin resolver (UCM) (Fig.18 y Fig.20), sin determinar su concentración en este estudio.

3.3.- Análisis Cuantitativo.

3.3.1.- Análisis temporal.

En el primer muestreo realizado en enero 2004, podemos observar que la estación Las Coloradas (LC), presenta un valor mayor de concentración promedio de TPH-diesel 287 mug TPH/g b.s, seguido por la estación Punta Castillito (PC) con una concentración promedio de TPH-diesel 63 mug TPH/g b.s, y por último la estación Las

Canteras 61 mug TPH/g b.s (Tabla 1). En relación a la estación de La Escuelita en este muestreo no se encontró individuos de la especie *Mytilus chilensis*, por lo cual no hubo análisis para esta estación (Fig. 4)

En el segundo muestreo, realizado en septiembre 2004, observamos que, la estación La Escuelita presenta una concentración promedio de TPH-diesel mayor, con un valor 125 mug TPH/g b.s, seguido por Las Canteras con una concentración promedio de TPH-diesel de 78 mug TPH/g b.s. La estación Punta Castillito con una concentración promedio de TPH-diesel 41 mug TPH/g b.s, y por último Las Coloradas con 37 mug TPH/g b.s. (Tabla 1) (Fig. 5)

En el tercer muestreo, realizado en enero 2005, se obtuvo que la estación La Escuelita, presenta una concentración promedio de TPH-diesel 70 mug TPH/g b.s, después en la estación Las Coloradas con una concentración promedio TPH-diesel 65 mug TPH/g b.s. La estación Punta Castillito con una concentración promedio de TPH-diesel de 45 mug TPH/g b.s; y por último Las Canteras con una concentración promedio de TPH-diesel de 30 mug TPH/g b.s (Tabla 1) (Fig. 6).

3.3.2.- Análisis Estacional.

En la estación Punta Castillito (PC), presenta en los tres muestreos variabilidad en las concentraciones promedios de TPH-diesel en PC1 63 mug TPH/g b.s, la cual es el valor mayor, seguido PC3 45 mug TPH/g b.s y PC2 con 41 mug TPH/g b.s, el cual presenta el valor menor de los tres muestreos (Fig.7)

En la estación Las Coloradas (LC), posee una clara variabilidad en las concentraciones promedios en los tres muestreos. El que posee mayor concentración es LC1 con 287 mug TPH/g b.s, seguido por LC3 con 65 mug TPH/g b.s y por último con un valor bastante menor que las dos anteriores LC2 37 mug TPH/g b.s (Fig.8)

En la estación Las Canteras (LCAN), presenta una variabilidad opuesta a las dos estaciones anteriores. Presentando en el segundo muestreo la concentración más alta LCAN2 con 78 mug TPH/g b.s, lo que sucede al revés en las dos estaciones anteriores que la presentan en el primer muestreo. Seguido por LCAN1 con 61 mug TPH/g b.s y en LCAN3 con 30 mug TPH/g b.s, este último es el menor valor de los tres muestreos. (Fig. 9)

En la estación La Escuelita, presenta valores bastante altos, en E2 su concentración promedio 125 mug TPH/g b.s y E3 con 70 mug TPH/g b.s. En E1, no hubo muestreo por no encontrar individuos de *Mytilus chilensis* vivos. (Fig.10)

3.4.- Análisis Lipídico.

En la estación Punta Castillito (PC), se observa que PC1 presenta una mayor concentración de TPH lípidos (2523 mug TPH/g b.l), es casi el doble que PC2 y PC3 (1442 mug TPH/g b.l; 1176 mug TPH/g b.l; respectivamente). (Fig.11)

En la estación Las Coloradas (LC), presenta una mayor concentración de TPH en lípidos; LC1 es el de mayor concentración (2758 mug TPH/g b.l), y con respecto a las concentraciones es casi el doble de LC2 y LC3 (1507 mug TPH/ g b.l; 1693 mug TPH/g b.l; respectivamente) (Fig.12)

En la estación Las Canteras, LCAN2 tiene una concentración mayor (3221 mug TPH/g b.l), seguido por LCAN1 (1867 mug TPH/g b.l) por último LCAN3 (559 mug TPH/g b.l). LCAN2 presenta el doble de LCAN1 y es seis veces mayor que LCAN3 (Fig.13)

En la estación La Escuelita (E), se observa que E2 tiene una concentración (2334 mug TPH/g b.l), dos veces mayor que E3 (1171 mug TPH/g b.l) (Fig.14)

Las muestras tomadas en enero 2004 (Tabla 2), presentan valores altos de TPH en Lípidos, siendo LC1 (2758 mug TPH/g b.l) es el más alto, siendo PC1 (2523 mug TPH/g b.l) el segundo y por último LCAN1 (1867 mug TPH/g b.l) (Tabla 2), siendo un valor menor a las otras dos estaciones anteriores (Fig.15)

En el muestreo de septiembre 2004 (Tabla 2), el valor más alto LCAN2 (3221 mug TPH/g b.l), seguido por E2 (2334 mug TPH/g b.l), LC2 (1507 mug TPH/g b.l) y el de menor valor PC2 (1442 mug TPH/g b.l) (Fig.16)

En el tercer muestreo, enero 2005 (Tabla 2); la estación con mayor valor es LC3 (1693 mug TPH/g b.l), seguido por PC3 (1176 mug TPH/g b.l), E3 (1171 mug TPH/g b.l) con un valor un poco menor a la anterior estación y LCAN3 (559 mug TPH/g b.l) con un valor mucho menor que las estaciones anteriormente mencionadas (Fig. 17)

3.5.- Índices de evaluación.

El origen de los hidrocarburos totales de petróleo (TPH) de las muestras suele ser complejo y puede incluir compuestos petrogénicos como biogénicos. Dentro del primero se incluye principalmente al petróleo (como hidrocarburos livianos, gasolinas;

hidrocarburos medianos, kerosén y diesel e hidrocarburos pesados, aceites). Las fuentes biogénicas, pueden incluir por ejemplo, algas, animales, plantas vasculares o bacterias.

Al aplicar los índices de evaluación a cada una de las muestras, se observó lo siguiente: Los índices Pristano/Fitano (P/F), C17/Pristano y C18/Fitano (Tabla 3), mostrando valores altos evidencia contaminación por petróleo, es decir, una contaminación petrogénica. Además, hay que tomar en cuenta la presencia de una mezcla compleja sin resolver (UCM), la cual se presenta en todas las muestras (Figs. 18, 19, 20, 21, 22 y 23) y que es representativa de una contaminación por hidrocarburos.

En síntesis, combinando toda la información de estos índices se puede demostrar que la contaminación por Hidrocarburos totales de petróleo es de origen petrogénica.

3.6.- Análisis Estadístico.

3.6.1.- Análisis de Varianza.

3.6.1.1.- Análisis Intrasitios.

En la estación Punta Castillito (PC), no se observan diferencias significativas entre PC1, PC2 y PC3, ya que presentan valor P (0,5925).

En la estación Las Coloradas (LC), presenta un valor P (0,0006); hay diferencias estadísticamente significativas entre LC1, LC2 y LC3. En el test de Kruskal-Wallis, también presenta diferencias estadísticamente significativas entre las medianas a un nivel de confianza del 95%, puesto que el valor de P (0,027) es inferior a 0,05.

En la estación Las Canteras (LCAN), no hay diferencias estadísticamente significativas entre LCAN1, LCAN2 y LCAN3, ya que presentan un valor P (0,3752).

En la estación La Escuelita (E), E2 y E3 no hay diferencias estadísticamente significativas, ya que presentan un valor P (0,5290).

3.6.1.2.- Análisis Intersitio.

En el muestreo realizado en enero 2004, presentan diferencias estadísticamente significativas, ya que el valor P (0,0031) es menor a 0,05 para un nivel de confianza de 95%.

En el muestreo realizado en septiembre 2004, las estaciones PC2, LC2, LCAN2 y E2, no presentan diferencias estadísticamente significativas, ya que su valor P (0,4553) es superior a 0,05.

En el muestreo realizado en enero 2005, las estaciones PC3, LC3, LCAN3 y E3, no hay diferencias estadísticamente significativas. Su valor P (0,1291) es mayor a 0,05.

Entre los tres muestreos realizados en enero, septiembre 2004 y enero 2005, no hay diferencias estadísticamente significativas, puesto que el valor P (0,4521), siendo superior 0,05 para un nivel de confianza de 95%.

4.- DISCUSION Y CONCLUSIONES

Los datos de Hidrocarburos totales de petróleo (TPH) de las muestras de choritos *Mytilus chilensis*, en las estaciones PC1 y LCAN1, muestran promedios de TPH similares 63 mug TPH/g b.s y 61 mug TPH/g b.s respectivamente, en cambio LC1 presenta un promedio mayor 287 mug TPH/g b.s.

Los Hidrocarburos totales de petróleo encontrados en las estaciones PC2 y LC2 son similares en 41 mug TPH/g b.s y 37 mug TPH/g b.s, respectivamente; un poco más alto se observa LCAN2 con 78 mug TPH/g b.s; en cambio, la estación E2 presenta un promedio mucho mayor que las tres estaciones anteriores con 125 mug TPH/g b.s.

En las estaciones PC3 y LCAN3 son similares sus promedios de concentraciones 45 mug TPH/g b.s y 30 mug TPH/g b.s, respectivamente; y LC3 y E3 presentan promedios similares entre sí 65 mug TPH/g b.s y 70 mug TPH/g b.s.

Para explicar esta tendencia de variaciones en la concentración de TPH en los diferentes muestreos, hay que tener en cuenta que los hidrocarburos totales de petróleo se introducen al ambiente marino en forma de solución y suspensión coloidal y gotas, lo cuales pueden ser absorbido por el plancton, partículas suspendidas, detritus y sedimentos (Stegeman & Teal, 1973).

Por ello, la oferta alimenticia, con material particulado para organismos filtradores, puede influir en las concentraciones de TPH en los bivalvos, ya que, presenta grandes fluctuaciones a través del año, las cuales pueden ser atribuidas tanto a causas climáticas como biológicas. La primera gran alza que experimenta esta variable (en el invierno) se debe al arrastre de sedimento provocado por las intensas

lluvias y a la acción de resuspensión del sedimento del fondo por condiciones climáticas bruscas. En cambio la segunda alza, que ocurre a fines de primavera (diciembre), se debería a que en este período ocurre un gran aumento de la biomasa planctónica (Navarro, 1983).

Otra explicación, de acuerdo a Lorenzen *et al.*, (1979), el chorito es un mitílido que crece tanto adherido en superficies duras, donde se encuentra expuesto totalmente a la columna de agua, o en fondos blandos (fango submarino), donde sólo un tercio de este se encuentra expuesto al medio y el resto cubierto de sedimento. Los especímenes recolectados en los tres muestreos, se encontraban adheridos a estos dos tipos de sustratos; Las Coloradas y La Escuelita, se encontraban en fondos blandos y Punta Castillito y Las Canteras se encontraban en adherido a superficies duras.

El hecho de encontrarse los choritos expuestos a estos tipos de sustratos, ya sea en fondos blandos como en superficies duras; en el primero, por ser del tipo fango a trae con mayor facilidad cualquier tipo de contaminante y en este caso hidrocarburos; en el segundo tipo de sustrato superficies duras, al estar expuesto los choritos a la columna de agua pueden filtrar con mayor facilidad aquellas partículas suspendidas o plancton que traen adheridos con hidrocarburos.

Según, Neff *et al.*, (1976), la retención de HAP en los tejidos lipídicos de los choritos, es un proceso pasivo dependiente de la afinidad de estos compuestos por su naturaleza hidrofóbica, lo cual puede ser atribuido de la misma forma a los Hidrocarburos totales de petróleo. En el primer muestreo (enero 2004), la mayor concentración se encuentra en Las Coloradas (2758 mug TPH/g b.l.), seguido por Punta Castillito (2523 mug TPH/g b.l) y por último Las Canteras (1867 mug TPH/g b.l).

En el segundo muestreo, Las Canteras presenta el valor mayor 3221 mug TPH/g b.I, además es el valor mayor de los tres muestreos. Es seguido por La Escuelita con 2334 mug TPH/g b.I, Las Coloradas con 1507 mug TPH/g b.I y Punta Castillito 1442 mug TPH/g b.I. En el último muestreo, la estación que posee mayor valor Las Coloradas con 1693 mug TPH/g b.I, seguido por Punta Castillito 1176 mug TPH/g b.I, La Escuelita 1171 mug TPH /g b.I y por último Las Canteras 559 mug TPH/g b.I.

Es bien conocido que el contenido lipídico en los mitílidos esta influenciado por su condición y ciclo reproductivo, aumentando durante la maduración de los gametos y disminuyendo durante y después del desove.

Según lo expresado por Lee *et al.*, (1996), el contenido de lípidos juega un papel importante, siendo dependiente de la disponibilidad de alimento y de las tasas de filtración que son más bajas en los meses de otoño e invierno. El aumento de la temperatura del agua producido en los meses de primavera (septiembre en adelante), provocan un aumento del contenido de plancton de las aguas, aumentando la oferta alimentaria; y un aumento en las tasas de filtración que permitiría una mejor captación de nutrientes.

El período de desove empieza alrededor del mes de septiembre, y su inicio se encuentra directamente relacionado con el alza de la temperatura por sobre los 11° C (Lorenzen *et al.*, (1979); Chaparro & Winter (1983)), relacionando además el stress alimenticio con condiciones de reserva para la producción gamética y el temprano desove con situaciones de mejor oferta alimenticia. Esto se ve reflejado en el muestreo de septiembre, un claro aumento de la temperatura superficial del agua, y tendría una estrecha relación en la concentración de lípidos en todas las estaciones (PC2, LC2,

LCAN2 y E2), sobre todo en las últimas dos. Si se toma en cuenta la alta afinidad lipídica de compuestos hidrofóbicos como el caso de los organoclorados y de los HAP, (Lee *et al.*, (1996)) sugieren que para el caso de los organoclorados, las fluctuaciones temporales de las concentraciones de estos contaminantes puede ser causadas por la carga de la concentración lipídica, lo que puede ser atribuido de la misma forma a los hidrocarburos totales de petróleo, y a los otros dos muestreos realizados en enero 2004 y enero 2005.

La explicación sobre las diferencias de comportamiento de las tendencias registradas en las estaciones PC, LC, LCAN y E, puede deberse a la heterogeneidad de los individuos muestreados. Pudo haber primado, el hecho de encontrarse en determinadas réplicas individuos de mayor edad y de mayor tamaño, con individuos más jóvenes. Aquí se produciría, una eventual perturbación en lo referente a la acumulación dependiente del contenido lipídico base del individuo, y a la acumulación dependiente de la variación lipídica, dependiente a la vez del ciclo reproductivo. Se debe destacar también, el hecho de que el comportamiento no es similar entre varios individuos de una misma especie; tanto en lo referente al contenido de materia grasa presente en el espécimen, tasas de filtración y depuración, y otros tantos factores que son intrínsecos del individuo, que solo podrían verse atenuados con mayores volúmenes de muestra.

Estudios de concentraciones de TPH en bivalvos en áreas contaminadas crónicamente tales como; Bahía Narragansett, Rhode Island, Bahía Westernport, Australia y Bahía Todos os Santos, Brasil; en estas áreas presentaban concentraciones promedios de hidrocarburos totales de petróleo 42 $\mu\text{g/g}$ base húmeda, 126 $\mu\text{g/g}$

base seca y 42 mug/g base seca, respectivamente (Boehm & Quinn, 1977; Burns & Smith, 1977; Tavares *et al.*, 1988).

Si observamos, los niveles de concentración de hidrocarburos en los choritos *Mytilus chilensis* de la bahía de Corral y sitios aledaños, y las comparamos con los valores de las regiones anteriormente mencionadas que presentan valores altos de TPH, los valores de la bahía de Corral son similares a estas áreas del mundo, por lo que la contaminación en la bahía y sitios aledaños es bastante alta.

En conclusión, respecto al nivel de hidrocarburos totales de petróleo (TPH-diesel) encontrados en tejido de chorito *Mytilus chilensis*, provenientes de las cuatro estaciones en Punta Castillito, Las Coloradas, Las Canteras y La Escuela, se puede señalar lo siguiente:

Los niveles encontrados en las muestras recolectadas, son significativos. Los máximos niveles encontrados se produjeron en los tres muestreos (LC1 287 mug TPH/g b.s; E2 125 mug TPH/g b.s; E3 70 mug TPH/g b.s). Esto indicaría una acumulación de los hidrocarburos totales de petróleo (TPH-diesel) en el contenido lipídico de los choritos, que estaría relacionado por el ciclo reproductivo, el cual es dependiente de la temperatura y de la oferta alimentaria que tendría esta especie en estos meses de muestreo.

Con respecto, a la procedencia de los hidrocarburos totales de petróleo, se puede decir que son principalmente de origen petrogénico, lo cual, lo demuestra la mezcla compleja sin resolver (UCM). Las probables fuentes petrogénicas podrían corresponder a derrames accidentales o intencionales de petróleo o combustibles derivados, producidos por la actividad y tráfico del transporte fluvial, por fumigaciones

realizadas a plantaciones agrícolas y forestales que se encuentran cerca de los cursos de agua que llegan al estuario del río Valdivia, y también por la población urbana que rodea al estuario, que contribuye a la contaminación antropogénica de la bahía de Corral y sus alrededores.

BIBLIOGRAFÍA

- **Arcos, D & Salamanca, M. (1989).** Descripción de las condiciones hidrográficas del estuario del río Valdivia. IX Jornadas de Ciencias del mar. Pág.154.
- **Boehm, P. D., Quinn, J. G. (1977).** The persistence of chronically accumulated hydrocarbons in the hard shell clam *Mercenaria mercenaria*. Marine biology 44, pp. 227-233.
- **Burns, K. A., Smith, J. L. (1977).** Distribution of petroleum hydrocarbons in Westernport Bay (Australia): results of chronic low level inputs. In: Wolfe, D. (Ed), Fate and Effects of Petroleum Hydrocarbons in Marine Ecosystems and Organisms. Pergamon, New York, pp. 442-453.
- **Calero, L.A. y R.F. Casanova. (1997).** Evaluación de algunos parámetros fisicoquímicos y sustancias contaminantes en el Pacífico colombiano. CCCP, Bol. Cient. 6: 29-44. Tumaco.
- **Carls, M. G., Babcock M. M., Harris P.M., Irvine G. V., Cusick J. A., Rice S. D. (2001).** Persistence of oiling in mussel beds after the Exxon Valdéz oil spill. Marine Environmental Research 51 (2): 167-190.
- **Colwell, R. & Walter, J. (1977).** Ecological aspects of microbial degradation of petroleum in the marine environment. Crit. Rev. Microbiol. 5: 423-445.
- **Chaparro, O.R. y Winter, J. (1983).** Efectos de una pobre oferta alimentaria en *Mytilus chilensis* sobre crecimiento, reproducción y standing stock en la miticultura de Yaldad (Chiloé, sur de Chile). Memorias de la Asociación Latinoamericana de Acuicultura. 5 (2): 203-214.

- **Flores, N. 2001.** Utilización de lodos residuales en la restauración de suelos contaminados con hidrocarburos. VI Congreso Nacional de Ciencias Ambientales, Pachuca; México.
- **Garay, J.A. 1996.** Estado Actual de los Puertos del Caribe Colombiano Relacionados con MARPOL 73/78. *Bol. Cient. CIOH No. 14 y 15.* pp- 42-55. Cartagena, Colombia.
- **Garay, J.A. y Bermúdez, H. 1995.** Informe Final “Inventario de los Puertos del Caribe y Pacífico Colombiano y Estimación de los Desechos Generados por los Buques”. Consultoría para el Proyecto WICSW de la OMI. 250p. Cartagena, Colombia.
- **Garay, J.A. y Castro. L.A. 1992.** Contaminación por Hidrocarburos Derivados del Petróleo en el Litoral Caribe Colombiano. Bahía Cispatá hasta Riohacha. *Bol. Cient. CIOH No.10.* P: 13-26. Cartagena, Colombia.
- **Garay, J.A. Marín, B; Ramírez, G; Vélez, A. M.; Troncoso, W; Acosta, J; Lancheros, A; Medina, O; Cadavid, B Y Calvano, N. 2001.** Informe Final Proyecto “Diagnóstico y Evaluación de la Calidad Ambiental Marina en el Caribe y Pacífico Colombiano. Red de Vigilancia para la Conservación y Protección de la Calidad de las Aguas Marinas y Costeras”. Fase I. MMA/FONAM/INVEMAR. Santa Marta.
- **Granby, K., & Spliid, N.H. (1995).** Hydrocarbons and organochlorines in common mussels from the Kattegat and Belts and their relation to condition indices. *Marine Pollution Bulletin, 30,* 74-82.

- **INVEMAR. 2000a.** Informe Anual de Actividades 95-2000. Santa Marta, Colombia.
- **Lavarías S., Pasquevich, Y., Arnal, N., Demetrio, P., Heras, H. (2005).** Niveles y probable origen de los hidrocarburos del arroyo pampeano “El Pescado” (Pcia. Buenos Aires, Argentina). *Acta Toxicol. Argent* 13 (1): 2-6.
- **Lee, K. M., Kruse, H. y Wassermann, O. (1996).** Seasonal fluctuation of organochlorines in *Mytilus edulis* L. From the South West Baltic Sea. *Chemosphere*. 32: 1883-1895.
- **Lorenzen, S., Gallardo, C., Jara, C., Clasing, E., Pequeño, G. y Moano, C. (1979).** Mariscos y peces de importancia comercial en el sur de Chile. Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile. Pp. 24-25.
- **Madigan, M., Martinko, J. & Parker, J. (1999).** Brock Biología de los microorganismos. Octava edición. Prentice may Iberia, Madrid. pág. 1064.
- **Navarro, J. (1983).** Oferta alimenticia natural y su efecto sobre los procesos fisiológicos del bivalvo *Mytilus chilensis* en la Bahía de Yaldad, Chiloé (sur de Chile). *Memorias de la Asociación Latinoamericana de Acuicultura*. 5 (2): 175-187.
- **Neff, J. M., Cox, B. A., Dtitix, D. y Anderson, J. W. (1976).** Accumulation and release of petroleum – derived aromatic hydrocarbons by four species of marine animals. *Marine Biology*. 38: 279 – 289.
- **Palma-Fleming, H. Asencio, Adalberto J. and Gutiérrez, E (2004).** Polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments and mussels of Corral Bay, South central, Chile. *J. Environ. Monit.* 6, 229-233.

- **Pino, M., Perillo, G. M. & Santamarina, P. (1994).** Residual fluxes in cross section in the Valdivia River estuary, Chile. *Estuary, Coastal and Shelf Sciences* 38: 491-505.
- **Santschi, P. H., Presley B. J., Wade, T.L., García – Romero, B., Baskaran (2001).** Historical contamination of PAHs, PCBs, DDTs, and heavy metals in Mississippi River delta, Galveston Bay and Tampa Bay sediment cores. *Marine Environmental Research* 52 (1): 51-79.
- **Stegeman, J. & Teal, J. M. (1973).** Accumulation, Release and Retention of Petroleum Hydrocarbons by the Oyster *Crassostrea virginica*. *Marine Biology* 22, 37-44.
- **Tavares, T. M., Rocha, V.C., Porte, C., Barcelo, D., Albaiges, J. (1988).** Application of the mussel watch concept in studies of hydrocarbons, PCBs and DDT in the Brazilian Bay of Todos os Santos (Bahia). *Marine Pollution Bulletin* 19, 575-578.
- **USEPA SW 846-3570. (2002).** Microscale Solvent Extraction (MSE).
- **USEPA (2005).** www.epa.gov

ANEXO



Figura1. Localización geográfica de los sitios de muestreos en la Bahía de Corral y Sitios Aledaños (1. Las Canteras, 2. Punta Castillito, 3. La Escuelita, 4. Las Coloradas).

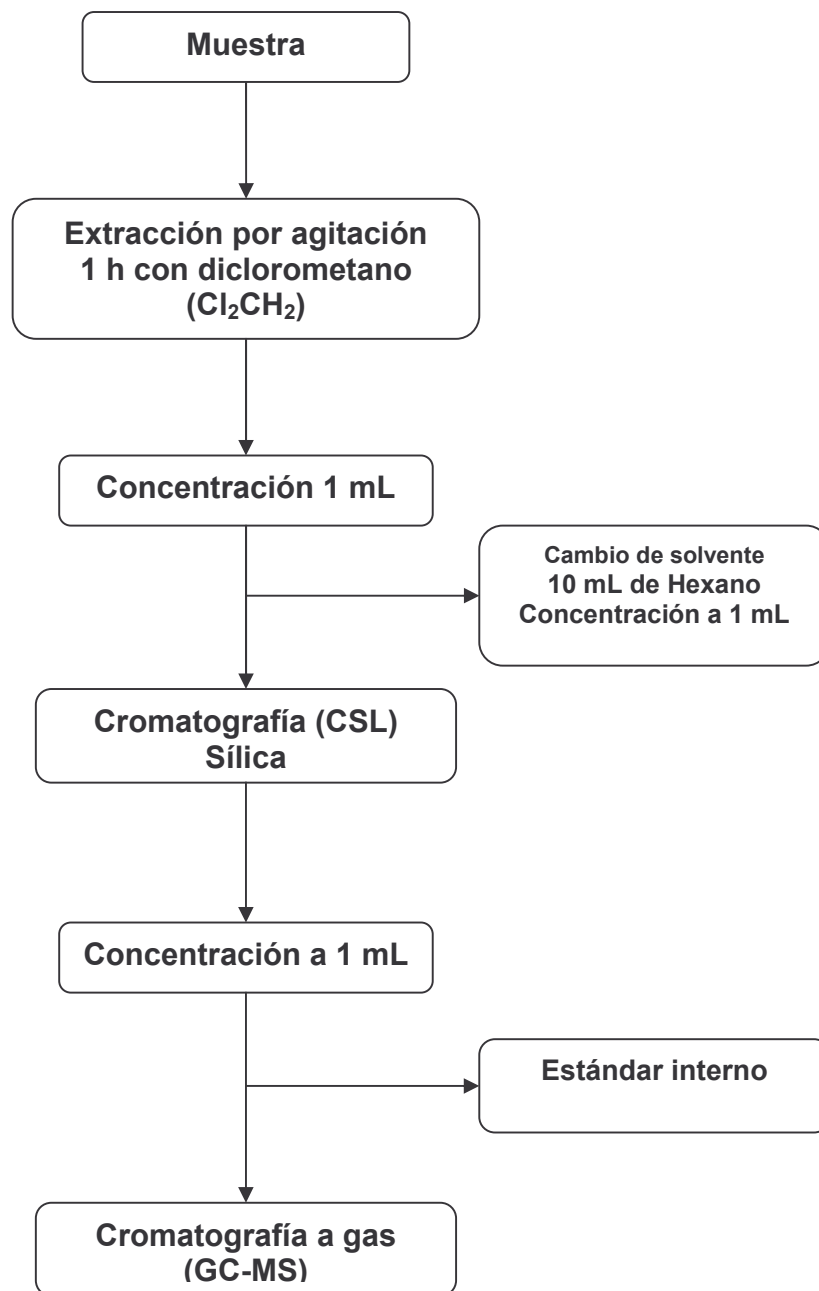


Figura 2. Esquema del método analítico (SW 846-3570 USEPA) empleado para la obtención y análisis cualitativo de hidrocarburos.

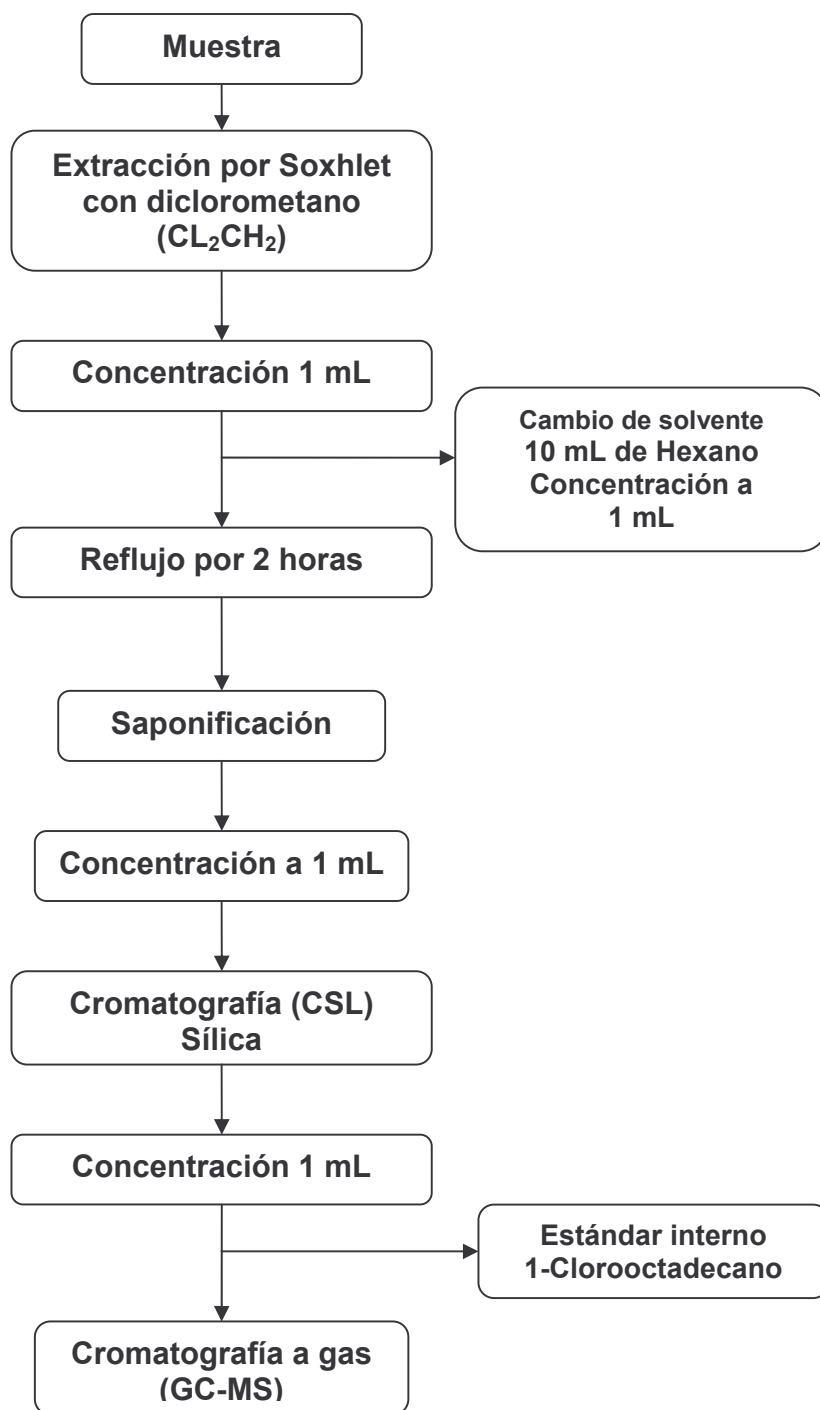


Figura 3. Esquema del método analítico, empleado para la obtención y análisis cuantitativo de hidrocarburos totales de petróleo (TPH).

Tabla 1. Valores concentraciones de hidrocarburos totales de petróleo (TPH-diesel) en las muestras de choritos *Mytilus chilensis*, en las estaciones Punta Castillito (PC), Las Coloradas (LC), Las Canteras (LCAN) y La Escuelita (E).

TPH-DIESEL BAHÍA DE CORRAL Y SITIOS ALEDAÑOS 2004-2005			
mug TPH/g base seca			
Estaciones	26-01-2004	12-09-2004	12-01-2005
PC-1	110	44	56
PC-2	33	59	36
PC-3	47	21	44
Suma	190	124	136
Promedio	63	41	45
LC-1	258	33	51
LC-2	240	40	49
LC-3	363	39	95
Suma	861	112	195
Promedio	287	37	65
LCAN-1	114	129	32
LCAN-2	56	58	30
LCAN-3	13	47	30
Suma	183	234	91
Promedio	61	78	30
E-1	-	42	58
E-2	-	281	102
E-3	-	52	50
Suma	no sample	375	210
Promedio	-	125	70

Tabla 2. Valores de las concentraciones de Hidrocarburos totales de petróleo (TPH-diesel) en lípidos, en choritos *Mytilus chilensis* de la Bahía de Corral y sitios aledaños.

TPH-DIESEL EN LÍPIDOS BAHÍA DE CORRAL Y SITIOS ALEDAÑOS 2004-2005		
Estaciones	% Lípidos	mug TPH /g base lipídica
PC1-1	3.6	2423
PC2-1	3.5	1442
PC3-1	3.6	1176
LC1-1	7.0	2758
LC2-1	1.8	1507
LC3-1	2.4	1693
LCAN1-1	4.7	1867
LCAN2-1	3.1	3221
LCAN3-1	4.5	559
E1-1	-	-
E2-1	1.5	2334
E3-1	4.0	1171

Tabla 3. Valores de los índices de evaluación aplicados a las muestras de chorito *Mytilus chilensis* de la Bahía de Corral y sitios aledaños durante los tres muestreos.

ÍNDICES DE EVALUACIÓN				
Índices	PC	LC	LCAN	E
P/F	2,27	4,38	2,17	3,23
C17/P	3,49	0,39	1,25	21,8
C18/F	0,91	1,36	1,19	0,87

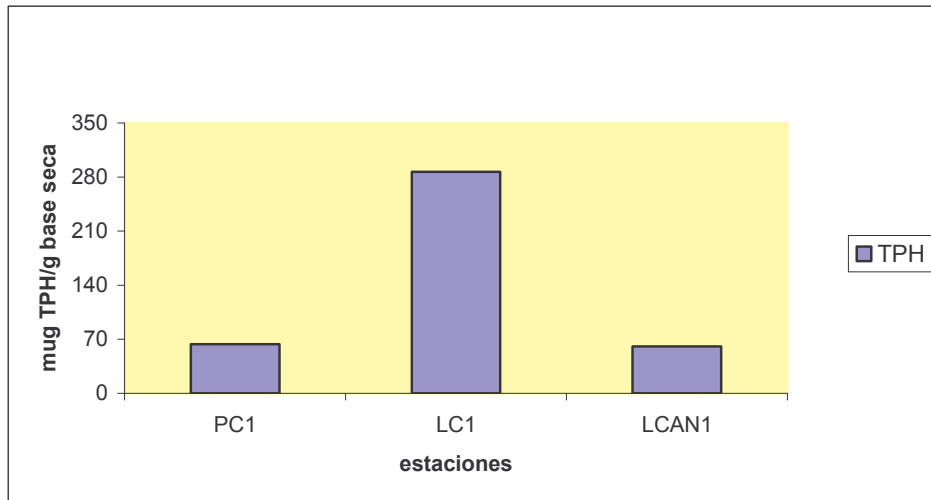


Figura 4. Distribución de hidrocarburos totales de petróleo (TPH-diesel). Muestreo enero 2004, en las estaciones Punta Castillito (PC1), Las Coloradas (LC1) y Las Canteras (LKAN1).

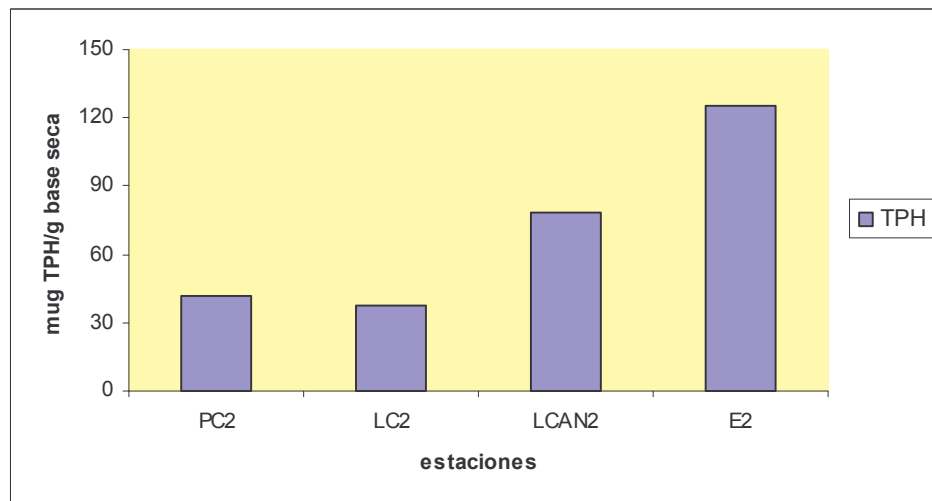


Figura 5. Distribución de hidrocarburos totales de petróleo (TPH-diesel). Muestreo septiembre 2004, en las estaciones Punta Castillito (PC2), Las Coloradas (LC2), Las Canteras (LKAN2) y La Escuelita (E2).

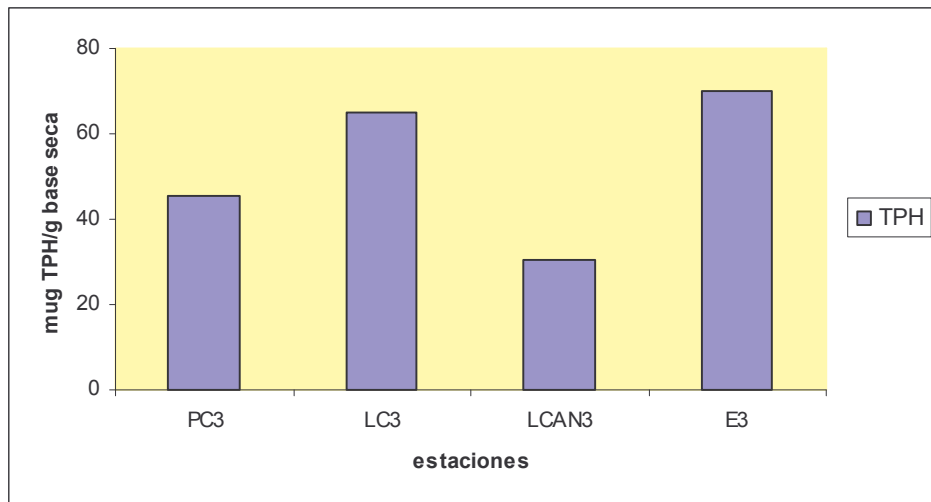


Figura 6. Distribución de hidrocarburos totales de petróleo (TPH-diesel). Muestreo enero 2005, en las estaciones Punta Castillito (PC3), Las Coloradas (LC3), Las Canteras (LCAN3) y La Escuelita (E3).

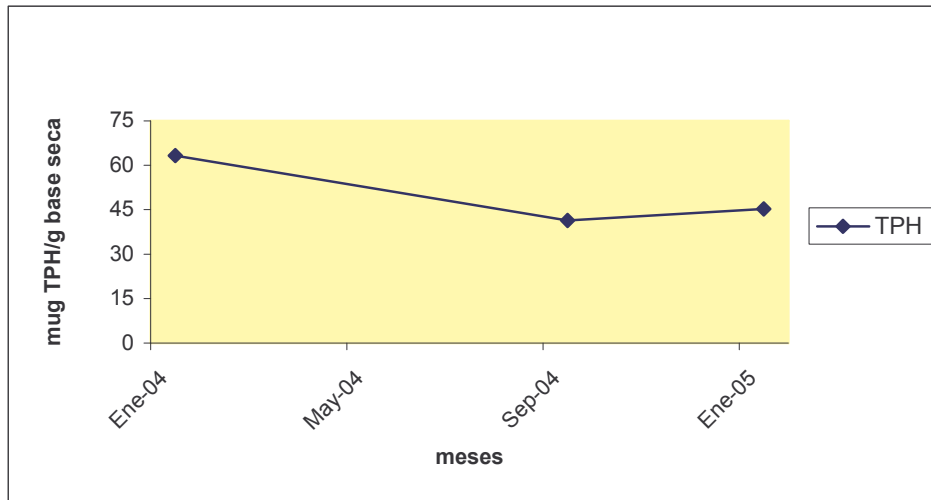


Figura 7. Distribución de las concentraciones de hidrocarburos totales de petróleo (TPH-diesel), en la estación Punta Castillito (PC), durante los tres muestreos realizados en 2004-2005.

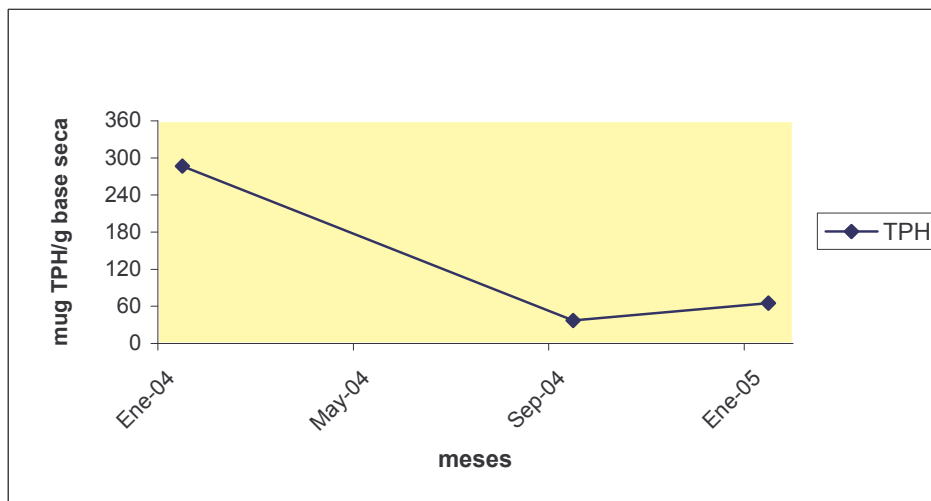


Figura 8. Distribución de las concentraciones de hidrocarburos totales de petróleo (TPH-diesel), en la estación Las Coloradas (LC), durante los tres muestreos realizados en 2004-2005.

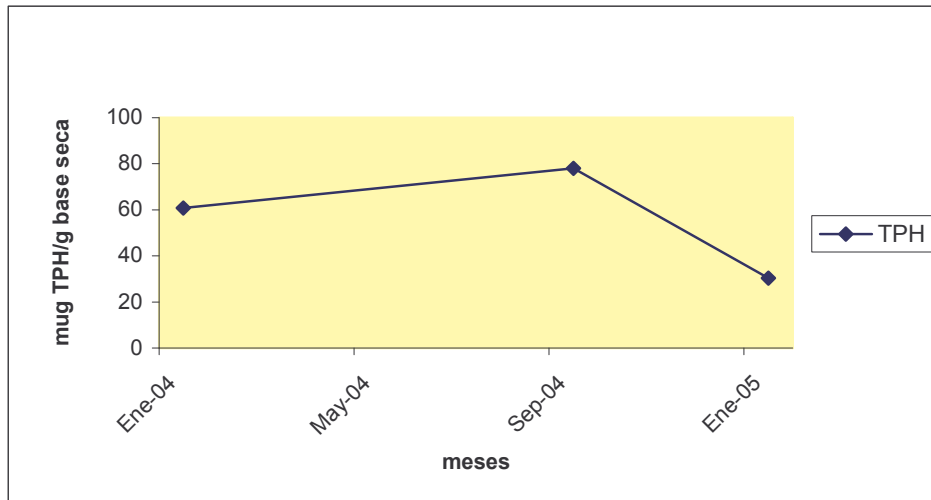


Figura 9. Distribución de las concentraciones de hidrocarburos totales de petróleo (TPH-diesel), en la estación Las Canteras (LCAN), durante los tres muestreos realizados en 2004-2005.

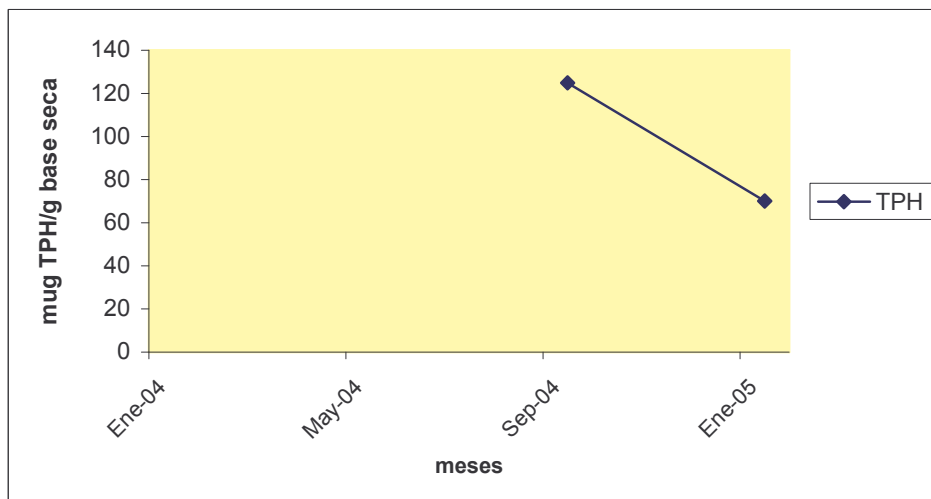


Figura 10. Distribución de las concentraciones de hidrocarburos totales de petróleo (TPH-diesel), en la estación La Escuelita (E), durante los tres muestreos realizados en 2004-2005.

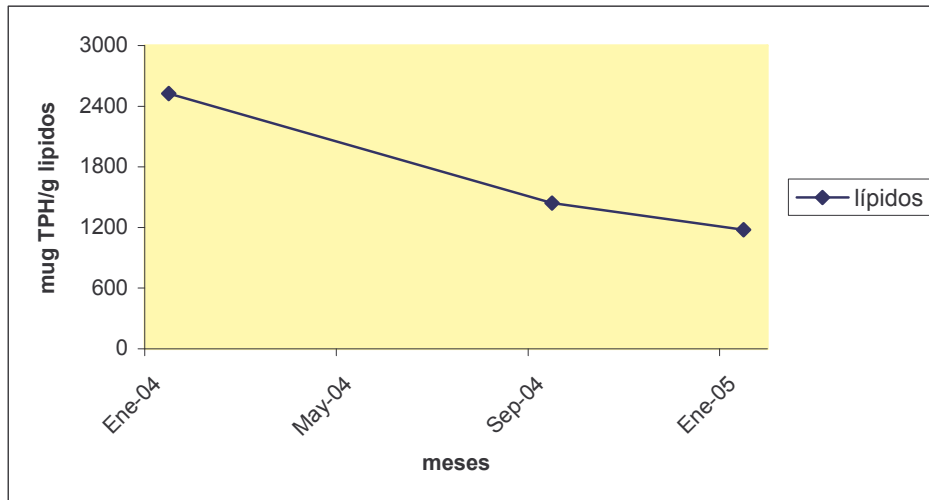


Figura 11. Distribución de las concentraciones de hidrocarburos totales de petróleo (TPH-diesel) en lípidos de las muestras de chorito *Mytilus chilensis*, en la estación Punta Castillito (PC), durante los tres muestreos realizados en 2004-2005.

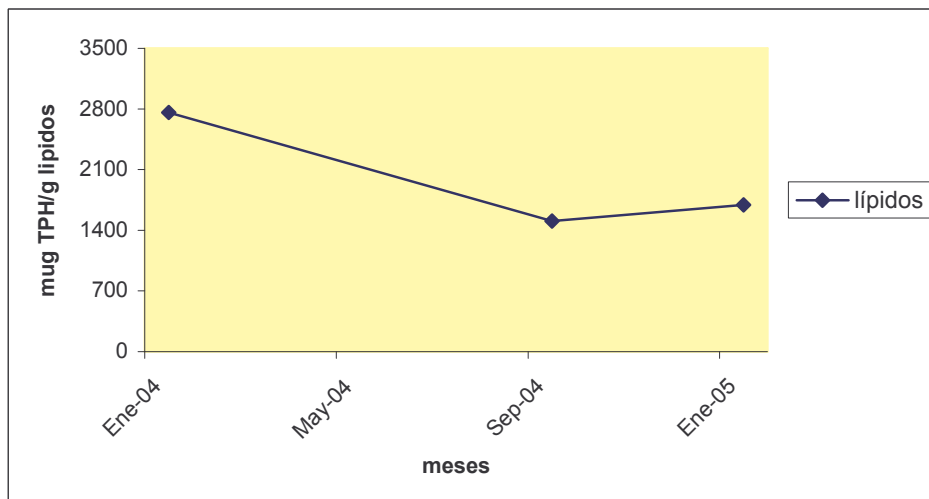


Figura 12. Distribución de las concentraciones de hidrocarburos totales de petróleo (TPH-diesel) en lípidos de las muestras de chorito *Mytilus chilensis*, en la estación Las Coloradas (LC), durante los tres muestreos realizados en 2004-2005.

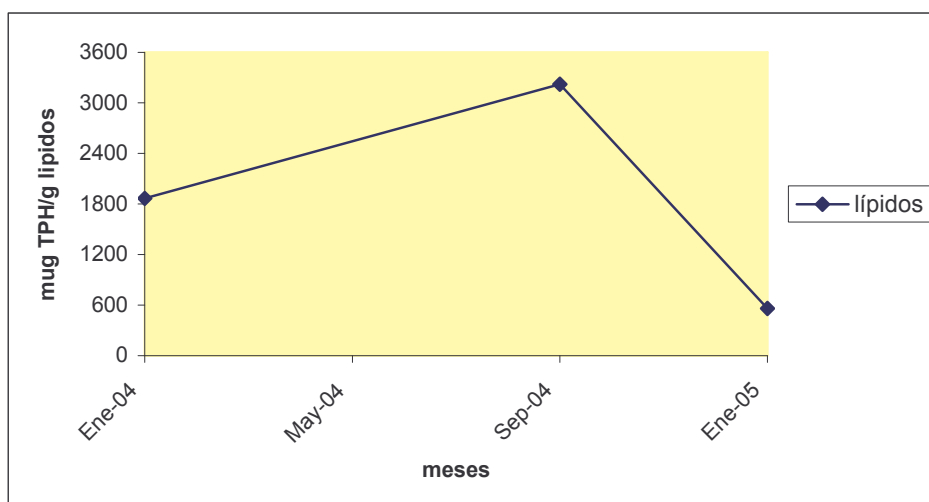


Figura 13. Distribución de las concentraciones de hidrocarburos totales de petróleo (TPH-diesel) en lípidos de las muestras de chorito *Mytilus chilensis*, en la estación Las Canteras (LCAN), durante los tres muestreos realizados en 2004-2005.

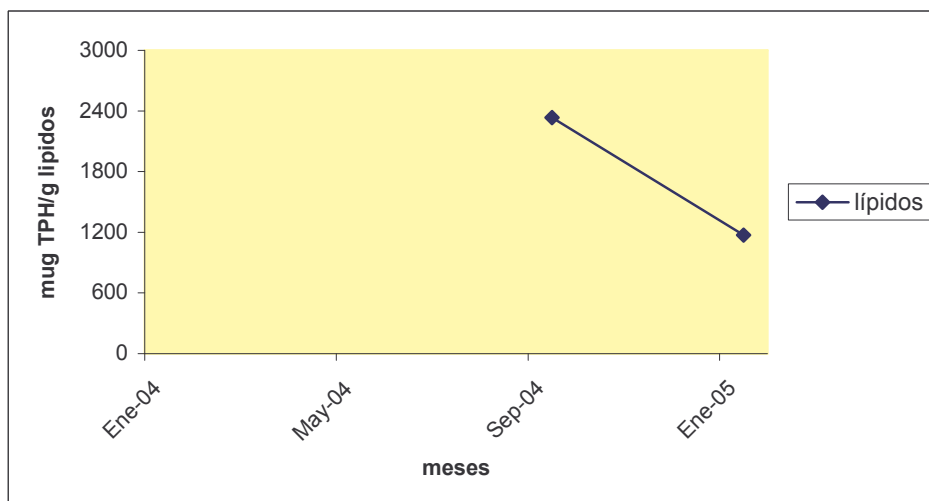


Figura 14. Distribución de las concentraciones de hidrocarburos totales de petróleo (TPH-diesel) en lípidos de las muestras de chorito *Mytilus chilensis*, en la estación La Escuelita (E), durante los tres muestreos realizados en 2004-2005.

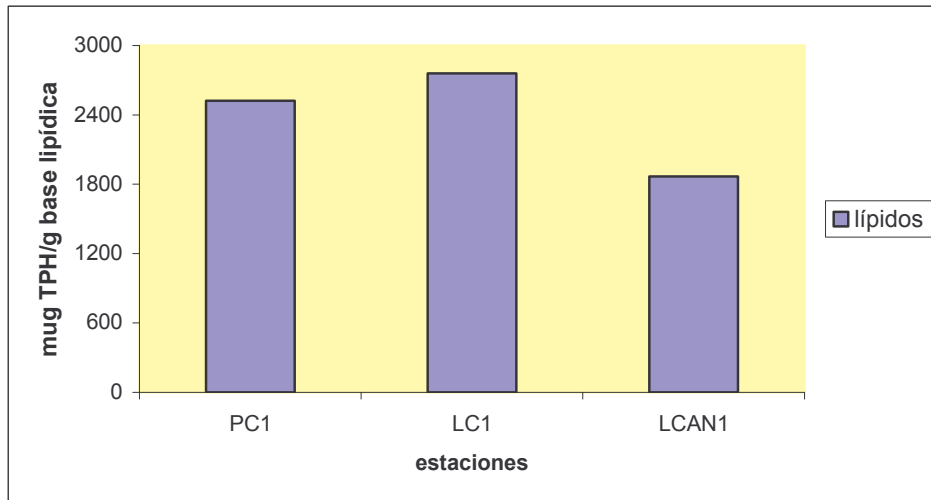


Figura 15. Distribución de las concentraciones de hidrocarburos totales de petróleo (TPH-diesel) en lípidos de las muestras de chorito *Mytilus chilensis*, en el muestreo realizados en enero 2004.

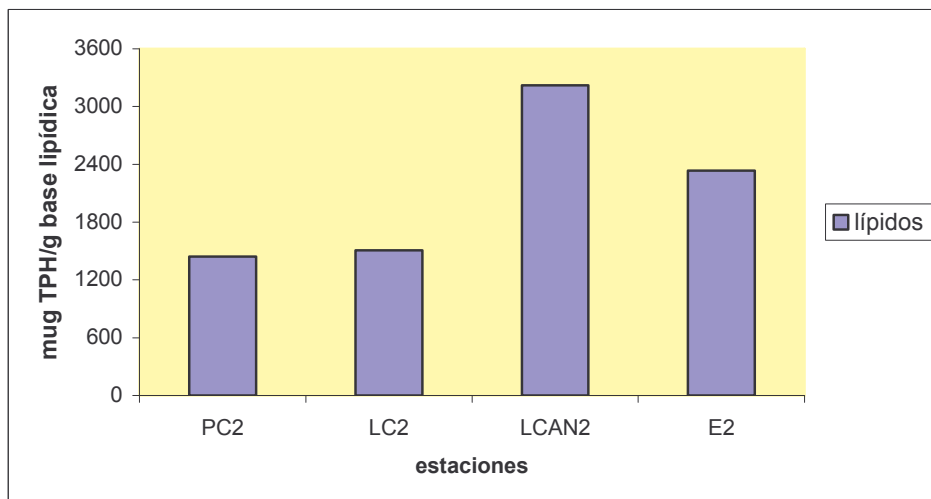


Figura 16. Distribución de las concentraciones de hidrocarburos totales de petróleo (TPH-diesel) en lípidos de las muestras de chorito *Mytilus chilensis*, en el muestreo realizados en septiembre 2004.

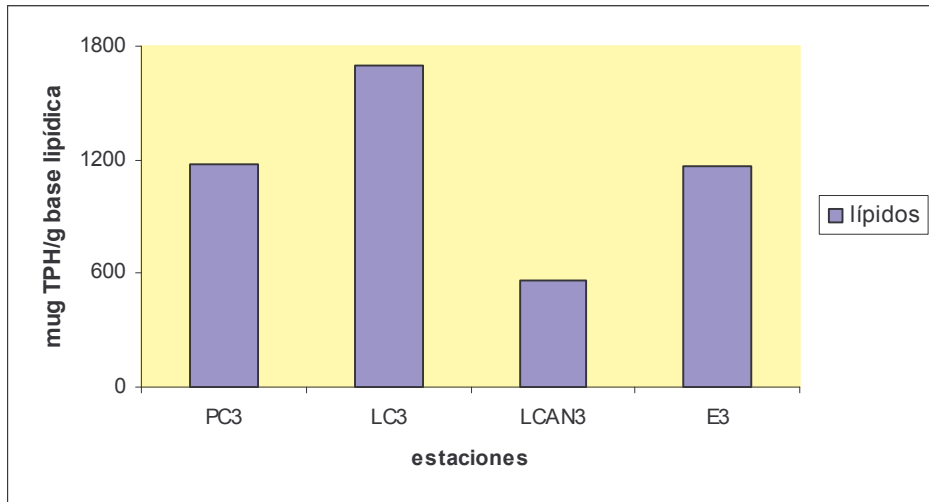


Figura 17. Distribución de las concentraciones de hidrocarburos totales de petróleo (TPH-diesel) en lípidos de las muestras de chorito *Mytilus chilensis*, en el muestreo realizados en enero 2005.

File : D:\HPCHEM\1\DATA\PTAC1.D
Operator : hpalma
Acquired : 25 May 2005 10:29 am using AcqMethod TPH-2C
Instrument : GC/MS Ins
Sample Name: TPH Pta Castillito 260104 chorito EI 1.0586ug
Misc Info : 2 uL, p splitless, EI-1-ClC18
Vial Number: 1

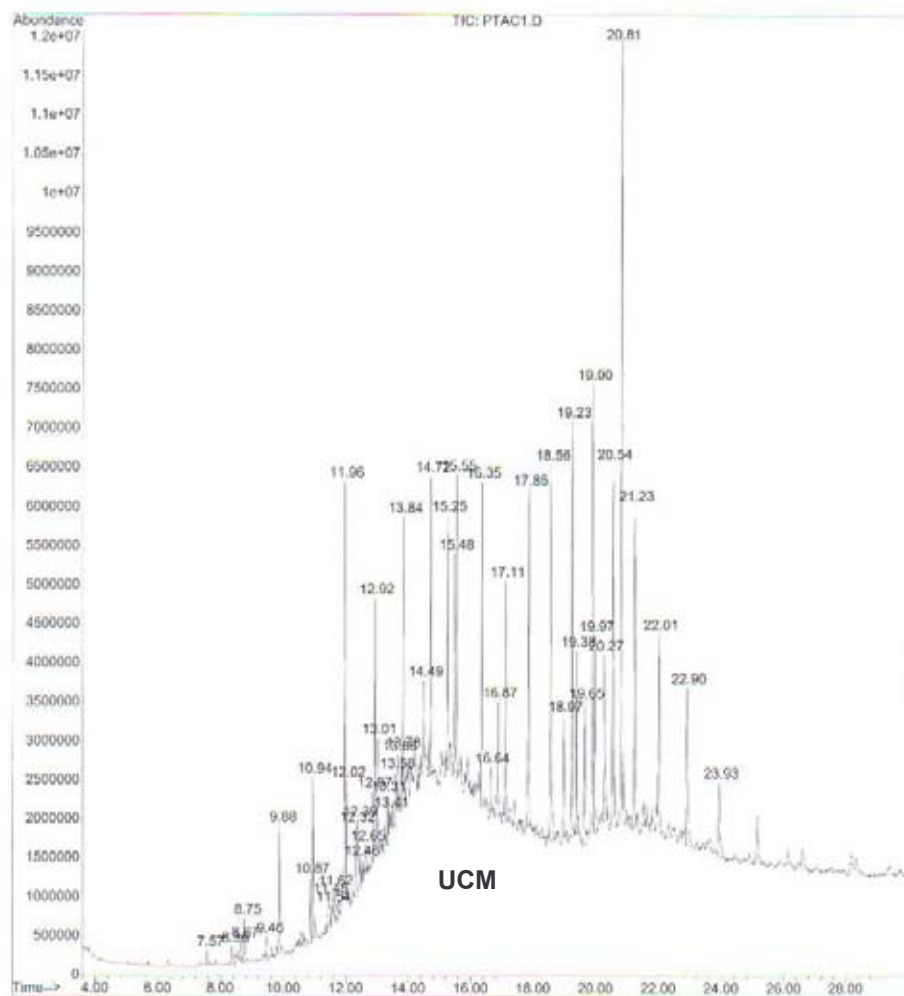


Figura 18. Cromatograma de la distribución de hidrocarburos totales de petróleo (TPH-diesel) en chorito *Mytilus chilensis*, proveniente de la estación Punta Castillito (PC1). Presenta mezcla compleja sin resolver (UCM).

File : D:\HPCHEM\1\DATA\PTAC3-3.D
Operator : hpalma
Acquired : 27 May 2005 8:29 am using AcqMethod TPH-2C
Instrument : GC/MS Ins
Sample Name: TPH PtaCastillito 3 120105 chorito EI1.0586ug
Misc Info : 2 uL, p splitless, EI=1-ClC18
Vial Number: 1

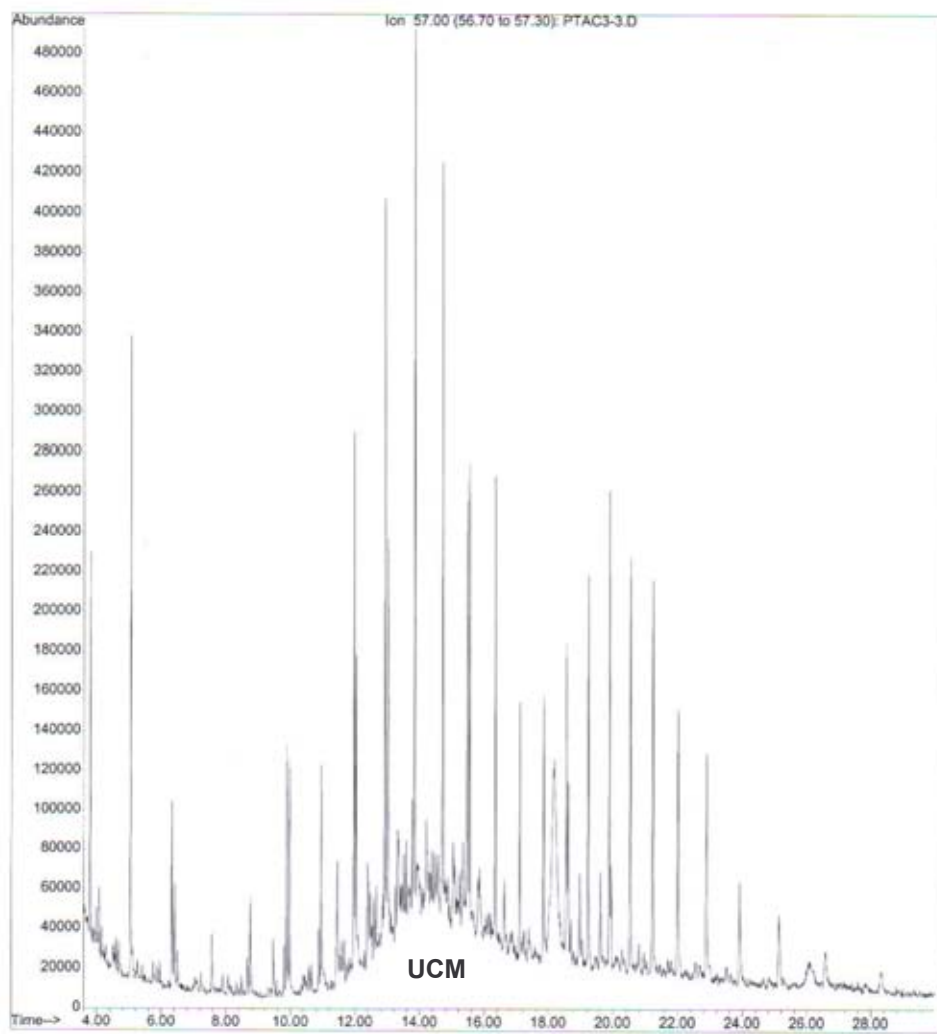


Figura 19. Cromatograma Ion 57, muestra curva representativa de hidrocarburos totales de petróleo (TPH-diesel), en la estación Punta Castillito (PC3).

File : D:\HPCHEM\1\DATA\LC2-1.D
 Operator : hpalma
 Acquired : 1 Jun 2005 12:16 pm using AcqMethod TPH-2C
 Instrument : GC/MS Ins
 Sample Name: TPH Las Coloradas 1 120904 chorito EI1.0586ug
 Misc Info : 2 uL, p splitless, Scan, EI=1C1-C18
 Vial Number: 1

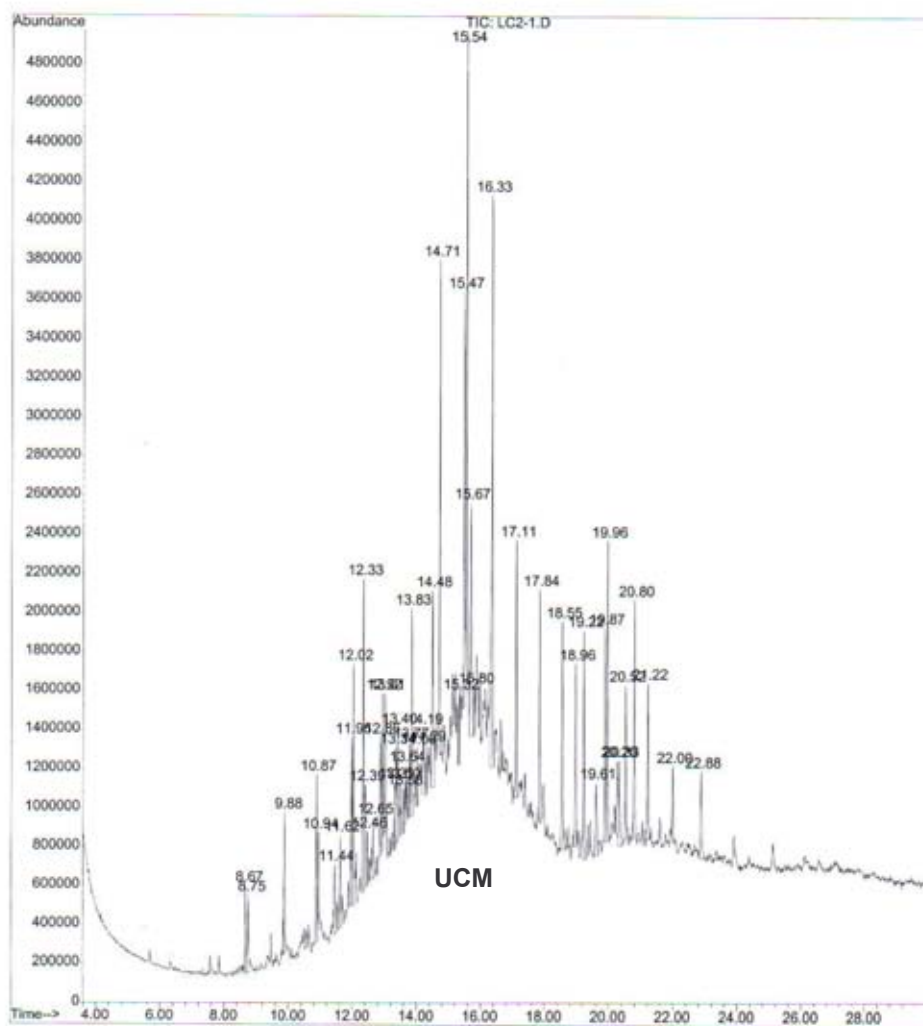


Figura 20. Cromatograma de la distribución de hidrocarburos totales de petróleo (TPH-diesel) en chorito *Mytilus chilensis*, proveniente de la estación Las Coloradas (LC2). Presenta mezcla compleja sin resolver (UCM).

File : D:\HPCHEM\1\DATA\LC2-1.D
Operator : hpalma
Acquired : 1 Jun 2005 12:16 pm using AcqMethod TPH-2C
Instrument : GC/MS Ins
Sample Name: TPH Las Coloradas 1 120904 chorito EI1.0586ug
Misc Info : 2 uL, p splitless, Scan, EI=1Cl-C18
Vial Number: 1

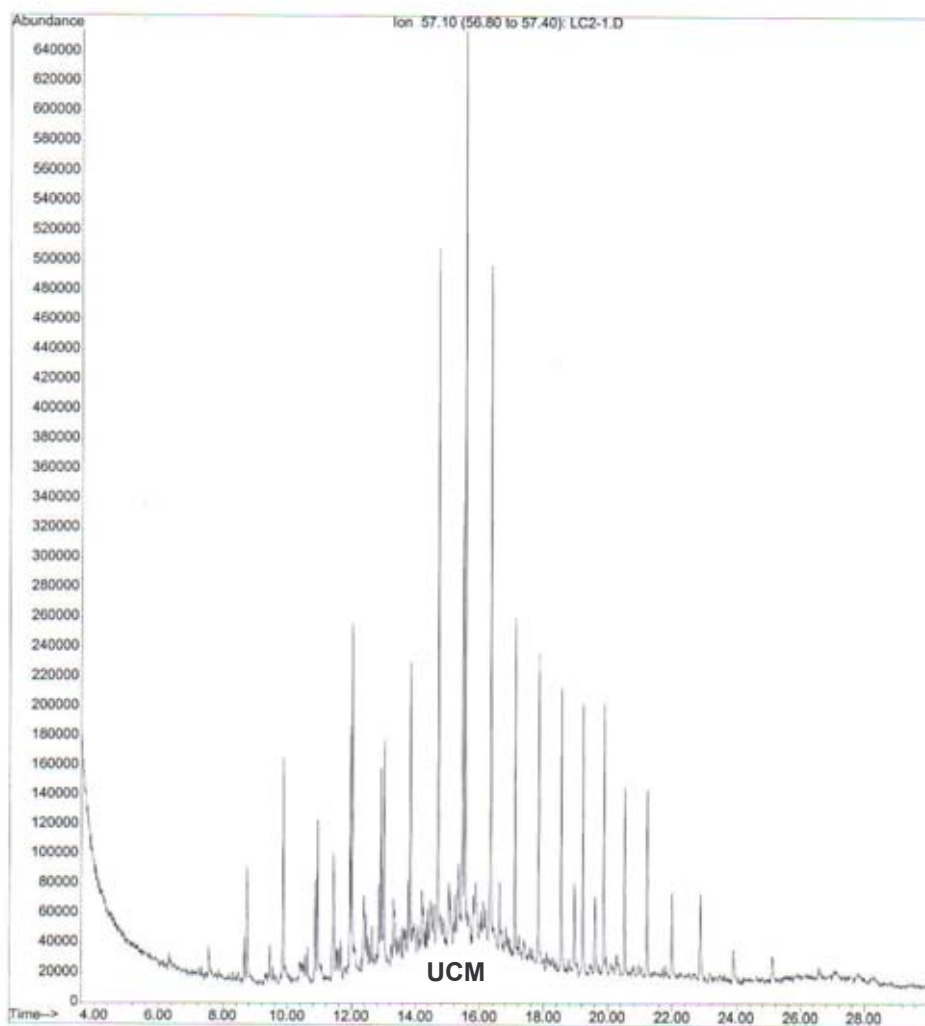


Figura 21. Cromatograma Ion 57, muestra curva representativa de hidrocarburos totales de petróleo (TPH-diesel), en la estación Las Coloradas (LC2).

File : D:\HPCHEM\1\DATA\LCAN2-1.D
 Operator : hpalma
 Acquired : 25 May 2005 5:10 pm using AcqMethod TPH-2C
 Instrument : GC/MS Ins
 Sample Name: TPH Las Canteras 1 120904 chorito EI 1.0586ug
 Misc Info : 2 uL, p splitless, EI=1-ClC18
 Vial Number: 1

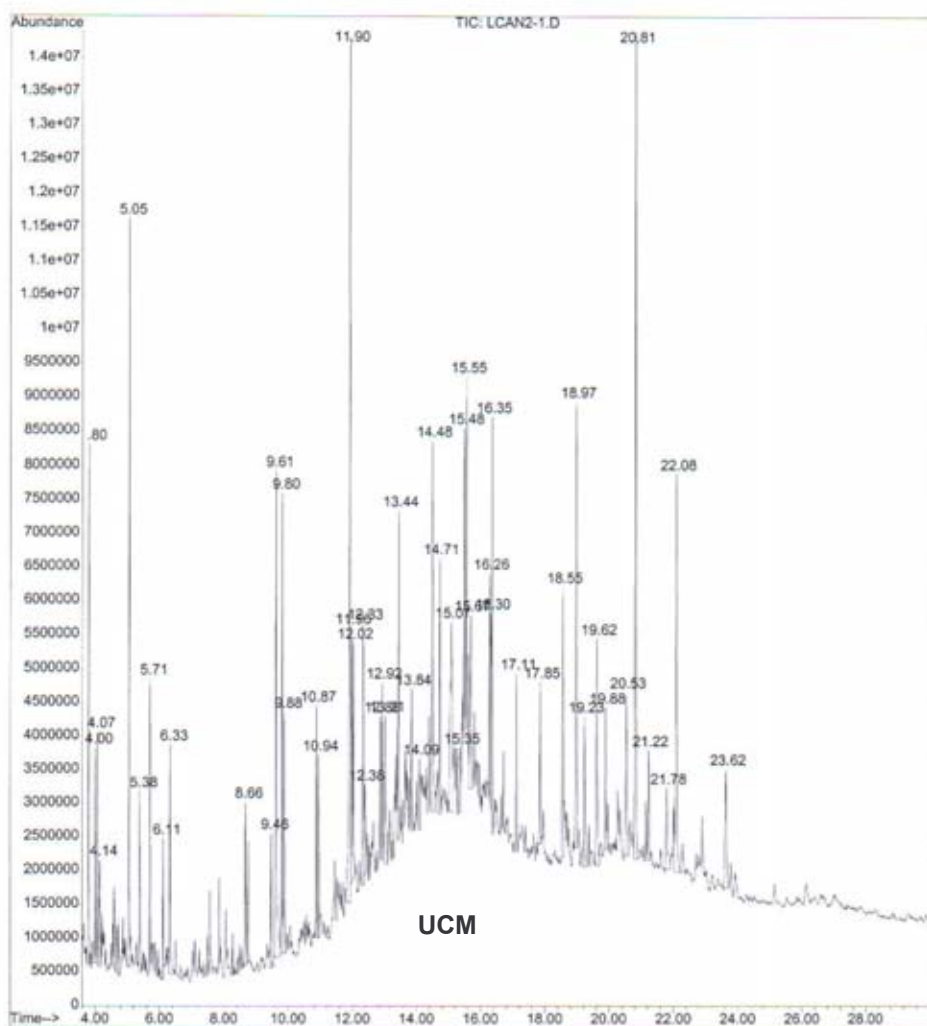


Figura 22. Cromatograma de la distribución de hidrocarburos totales de petróleo (TPH-diesel) en chorito *Mytilus chilensis*, proveniente de la estación Las Canteras (LCAN2). Presenta mezcla compleja sin resolver (UCM).

File : D:\HPCHEM\1\DATA\ES2-1.D
 Operator : hpalma
 Acquired : 1 Jun 2005 4:47 pm using AcqMethod TPH-2C
 Instrument : GC/MS Ins
 Sample Name: TPH Escuela 1 120904 chorito EI1.0586ug
 Misc Info : 2 uL, p splitless, Scan, EI=1Cl-C18
 Vial Number: 1

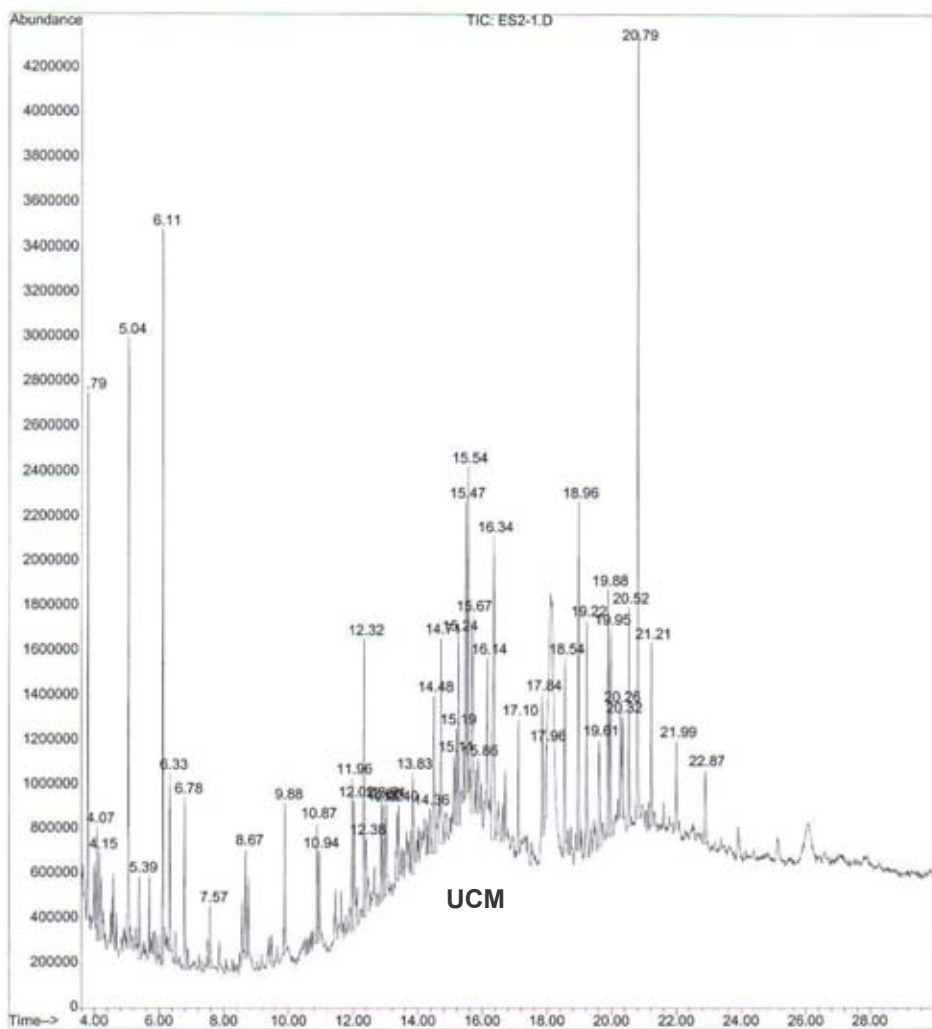


Figura 23. Cromatograma de la distribución de hidrocarburos totales de petróleo (TPH-diesel) en chorito *Mytilus chilensis*, proveniente de la estación La Escuelita (E2). Presenta mezcla compleja sin resolver (UCM).