



Universidad Austral de Chile

Facultad de Ciencias
Escuela de Química y Farmacia

PROFESOR PATROCINANTE: Dr. Sandor Mulsow F.
INSTITUTO: Geociencias
FACULTAD: Ciencias

“DETERMINACIÓN DE BIODISPONIBILIDAD DE METALES (Al, Cd, Cr, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn) EN MUESTRAS DE AGUA Y SEDIMENTO DEL ESTUARIO DEL RÍO VALDIVIA MEDIANTE LA TÉCNICA DE DIFUSIÓN DE GRADIENTE EN CAPA FINA (DGT)”

Tesis de Grado presentada como parte de los requisitos para optar al Título de Químico Farmacéutico.

JOAQUÍN RODRIGO DÍAZ PACHECO

VALDIVIA-CHILE

2007

*Dedicado a mis padres Julieta y Alberto quienes
han sido un apoyo incondicional durante mi vida.*

AGRADECIMIENTOS

Al laboratorio de Geobentos de la Universidad Austral de Chile.

Al Dr. Sandor Mulsow F. por hacerme participe de este proyecto, por su confianza, apoyo y paciencia.

A mis padres por el apoyo incondicional durante todos mis años de estudio en esta Universidad.

A Wendy, Leonardo y Pedro, amigos a través del tiempo, cada uno imposible de describir en tan pocas líneas. Gracias a ellos por acompañarme y hacerme sentir un miembro más de sus familias.

Al Dr. Humberto Dölz y el profesor Salvador Cabrera a quienes considero como modelos del tipo de profesional que quiero llegar a ser. Gracias a ambos por el apoyo y enseñanzas.

A mis compañeros de tesis del laboratorio de Geobentos.

A Karina, Paola, Carmen Gloria y Karina, amigas cuya confianza, cariño y paciencia han sido fundamentales durante este proceso de mi vida.

A Irene Díaz quien me ha ensañado que se puede seguir luchando y viviendo por un ideal aún cuando parezca que no quedan esperanzas.

A todas las personas que han estado conmigo durante mi paso por esta universidad y que indirectamente han estado conmigo en este proceso final de mi vida universitaria. A todos ellos les agradezco de corazón la paciencia y el apoyo ofrecido para que yo pueda formar el proyecto de lo que será mi vida profesional.

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

Al	Aluminio
Cd	Cadmio
cm	Centímetro
Cr	Cromo
DGT	Difusión de Gradiente en Capa Fina
Fe	Hierro
HNO ₃	Ácido Nítrico
ICP-MS	Espectroscopía de Emisión de Plasma Acoplado Inductivamente
Kg	Kilogramo
M	Molaridad
Mn	Manganeso
mg L ⁻¹	Miligramos por Litro
Ni	Níquel
Pb	Plomo
ppm	Partes por millón
Zn	Zinc

ÍNDICE

	Página
1. RESUMEN.....	7
SUMMARY.....	8
2. INTRODUCCIÓN.....	9
Objetivos.....	12
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
3.1 Área de Estudio.....	13
3.2 Estaciones de Muestreo.....	14
3.3 Extracción de muestras y tratamiento.....	15
3.3.1 Fundamentos básicos técnica DGT.....	15
3.3.2 Muestras de agua.....	17
3.3.3 Muestras de sedimentos.....	18
3.4 Determinación de eficiencia de DGT.....	20
4. RESULTADOS.....	21
4.1 Muestras columna de agua.....	21
4.2 Muestras de sedimentos.....	22

5.	DISCUSIÓN.....	25
	5.1.Muestras columna de agua.....	26
	5.2 Muestras de sedimentos.....	29
6.	CONCLUSIONES.....	33
7.	BIBLIOGRAFÍA.....	35
8.	ANEXOS	
	Anexo 1: Cálculo de la Concentración medida por el Dispositivo DGT....	40
	Anexo 2: Tablas.....	42
	Anexo 3: Figuras.....	48

1. RESUMEN

Se utilizó la técnica de Difusión de Gradiente en Capa Fina (DGT) en muestras de agua y sedimentos en una serie de estaciones del Estuario del Río Valdivia y desembocadura del Río Tornagaleones para determinar biodisponibilidad de los metales Al, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn.

La técnica de Espectroscopia de masa con plasma inductivamente acoplado fue usada para la determinación de las concentraciones de los analitos muestreados.

Las concentraciones de metales más altas medidas en columna de agua correspondieron a Al ($6,3 \text{ mg L}^{-1}$) y Fe ($3,8 \text{ mg L}^{-1}$). Al sobrepasa los límites establecidos en base a concentraciones de metales totales (Norma Chilena DS90).

Las concentraciones de metales más altas medidas en sedimentos (agua intersticial) fueron detectadas para Fe ($13,5 \text{ g L}^{-1}$) y Mn (83 mg L^{-1}) ambas correspondientes a la estación denominada E4 en la Zona del Río Tornagaleones.

El hecho de que algunas concentraciones biodisponibles superen los valores establecidos por la Norma Chilena es un factor que se debería tomar en cuenta al momento de realizar futuras investigaciones en agua y sedimentos en el área de estudio.

SUMMARY

We used DGT technique in water and sediment samples from several stations located in the Valdivia Estuary and Tornagaleones River to assess heavy metals bioavailability concentrations of the following elements: Al, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn. The metal concentration was measured using ICP-MS. The highest concentration of bioavailable metals in water samples were Al ($6,3 \text{ mg L}^{-1}$) and Fe ($3,8 \text{ mg L}^{-1}$). Al concentration were above the limit set by the Chilean Norm (DS 90) for natural waters. The highest concentration of bioavailable heavy metals in sediments were Fe ($13,5 \text{ g L}^{-1}$) and Mn (83 mg L^{-1}), both measured at E4 station located at Tornagaleones River. The fact that some of the concentrations of bioavailable heavy metals are above the Chilean Norm levels, suggest that further investigation need to be done in the studied both in the water and sediment column at the area of study.

2. INTRODUCCIÓN

Los sistemas acuáticos son fácilmente enriquecidos por concentraciones de metales pesados producto de actividades antropogénicas, factores abióticos y biológicos. Los metales trazas existen en los sistemas acuáticos en una diversa variedad de formas orgánicas e inorgánicas. La toxicidad de estos metales depende ampliamente de su biodisponibilidad (Rozas 2001).

Se entiende por biodisponibilidad la cantidad de metal libre y que no forma complejos que está en condiciones de atravesar una membrana celular e interactuar con material biológico. Estos metales son capturados y acumulados con mayor facilidad por los organismos celulares que los metales fuertemente unidos a complejos. La formación de complejos de los metales en el medio acuoso puede ocurrir por reacciones con ligandos inorgánicos (F^- , Cl^- , HCO_3^- , SO_4^- , HPO_4^- etc.) y ligandos orgánicos (sustancias húmicas). En la mayoría de los casos el acomplejamiento con moléculas orgánicas reduce la biodisponibilidad de los metales ya que no pueden ser transportados a través de la membrana celular. Sin embargo los complejos inorgánicos se disocian rápidamente a la forma de metal libre.

Los efectos de la toxicidad causada por metales son variables, pero generalmente son expresados como mortalidad, disminución de la tasa de crecimiento celular y metabólico. Los metales son tóxicos porque a una concentración determinada ellos compiten por sitios intracelulares que normalmente son ocupados por metabolitos, de esta forma interfieren con las funciones celulares normales.

La cuantificación de los metales biodisponibles es un objetivo difícil de realizar por el comportamiento químico de los metales en el medio acuático (Zhang y Davison, 2001).

Se han utilizado diferentes métodos para estimar en forma cuantitativa la concentración de metales biodisponibles en ambientes acuáticos como lo son: iones selectivos, diálisis, ánodos voltamétricos y resinas de intercambio iónico (Davison y Zhang, 1994). Todas estas técnicas son extremadamente complicadas por el comportamiento de los metales (estados de oxidación) almacenamiento y procedimiento analítico de las muestras entre otros (Davison y Zhang, 1994).

Por las razones antes mencionadas, muchos de los estudios sobre biodisponibilidad de metales se han basado en la utilización de organismos vivos (microorganismos, plantas y animales). Sin embargo, la validez de estas técnicas depende de la certeza y reproducibilidad de sus procedimientos analíticos. En 1994, Davison y Zhang, publicaron un artículo en *Nature*, en donde se demuestra la aplicabilidad de una nueva técnica para estimar la biodisponibilidad de metales pesados en ambientes acuáticos. Esta técnica se fundamenta en la capacidad de los metales de difundir a través de un gel de difusión selectivo a complejos orgánicos, biodisponibles, los cuales eran finalmente fijados en una resina residente y quelante. La técnica se denominó DGT, acrónimo que significa Diffusive Gradient Thin Gel o Difusión de gradiente en capa fina.

La técnica DGT representa una nueva aproximación para determinaciones *in situ* de especies metálicas lábiles en sistemas acuáticos. El dispositivo DGT es capaz de acumular pasivamente especies lábiles desde una solución matriz y se puede desarrollar *in situ* minimizando los problemas asociados a contaminación, colección y filtración de muestras.

La técnica DGT se puede utilizar para diversos propósitos como medición de sustancias orgánicas e inorgánicas *in situ*, monitoreo de concentraciones en el tiempo, medidas de alta resolución espacial y estudios de biodisponibilidad.

La técnica DGT ha sido utilizada en la determinación de metales biodisponibles en agua (Davison y Zhang 1994; Zhang y Davison 2000; Zhang y Davison 2001; Pizarro 2001) en sedimentos y agua intersticial (Davison, Zhang and Miller 1994, Zhang *et al* 1995; Davison, Fones y Grime 1997; Webb y Keough 2002).

A la masa de metal acumulada por el dispositivo DGT se le somete un tratamiento de elusión ácida para posteriormente ser analizada mediante técnicas espectrofotométricas como AAS (espectroscopia de absorción atómica) o ICP-MS (espectroscopia de masa con plasma inductivamente acoplado). De esta forma se obtiene de una forma fácil y precisa la concentración de la solución muestreada.

La técnica DGT ha sido usada desde 1993 por diversos grupos de investigadores que han hecho comparaciones tanto en laboratorio como en terreno publicando los resultados en diferentes journals (Davison and Zhang, 1994; Zhang and Davison 1995, 2000).

La metodología general de este trabajo es la utilización de la técnica DGT para evaluar la concentración de metales biodisponibles de importancia ecotoxicológica (Al, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn) en la columna de agua y de sedimentos del complejo estuarial del río Valdivia.

La puesta en marcha de esta metodología forma parte de dos proyectos de investigación del laboratorio de Geobentos de la Universidad Austral de Chile financiados por Fondecyt 1050247.

La hipótesis que se postula en este escrito es que la técnica de Difusión de Gradiente en Capa Fina (DGT) es aplicable a un sistema estuarial complejo como lo es la zona estuarial del río Valdivia.

Objetivo General:

- Evaluar la biodisponibilidad de los metales Al, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn utilizando la técnica de Difusión de Gradiente en Capa Fina (DGT) en la zona del estuario del río Valdivia.

Objetivos Específicos:

- Determinar y cuantificar la concentración biodisponible de los metales Al, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn en muestras de agua del río Valdivia.
- Determinar y cuantificar la concentración biodisponible de los metales Al, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn en muestras de sedimento de la boca del río Tornagaleones.
- Discutir la tendencia espacial de abundancia y biodisponibilidad de metales traza propuestos para este estudio

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. ÁREA DE ESTUDIO

El área de estudio corresponde a la zona del estuario del río Valdivia, ubicado en la Décima Región de Los Lagos, Chile (Figura 1).

Un estuario es un cuerpo de aguas semicerrado, costero, con conexión libre con el océano, donde se produce dilución considerable y medible de las aguas saladas en las aguas continentales. Debe siempre estar afectado por mareas, siendo su límite superior el lugar aguas arriba hasta donde se puede medir efecto de la onda mareal.

El complejo estuarial Valdivia se ubica aproximadamente en $39^{\circ} 50' S$ y $73^{\circ} 20' W$ y drena al mar una superficie total de 11.119 Km^2 correspondiente a la cuenca del río Valdivia (Paredes, 1998). Está conformado por los estuarios mayores de los ríos Valdivia, Tornagaleones y Cruces. (Montgomery & Dietrich, 1988).

El ancho promedio del río Valdivia es de 700 m, con una profundidad promedio de 3 a 5 m. La desembocadura se localiza entre la Punta de Niebla y Punta Carboneros, en la Bahía de Corral (Paredes, 1998). Todo el sistema estuarial de Valdivia es de tipo mezcla parcial, es decir, existe una gradación paulatina de salinidad de fondo a superficie, y de boca a cabecera (Pino *et al.*, 1994).

3.2. ESTACIONES DE MUESTREO

Las estaciones de muestreo se distribuyeron a lo largo del río Valdivia y se dividen en muestras de columna de agua (estaciones 1, 2 y 3) y muestras de sedimentos (estaciones E1, E2, E3 y E4).

La estación 1 se encuentra en la cabeza del río Valdivia (Figura 2, estación 1). Las estaciones 2 y 3 se encuentran en la parte media del río (ciudad; Figura 2, estaciones 2 y 3).

Las estaciones E1, E2, E3 y E4 se encuentran ubicadas en la salida del río Tornagaleones a la altura de la boca del Río Valdivia (Figura 2).

En las estaciones 1, 2 y 3, se colectaron metales biodisponibles sólo de la columna de agua a tres niveles; superficie (90 % desde el fondo), profundidad media (50 % desde el fondo) y fondo (10 % desde la interfase agua-sedimento). Las muestras fueron colectadas en un dispositivo DGT tipo disco (Figura 3) Los dispositivos y geles se mantuvieron bajo la superficie del agua durante un período de 24 horas.

En la estaciones E1 ($39^{\circ} 54' S$ y $73^{\circ} 23' O$), E2 ($39^{\circ} 53' S$ y $73^{\circ} 21' O$), E3 ($39^{\circ} 53' S$ y $73^{\circ} 22' O$) y E4 ($39^{\circ} 53' S$ y $73^{\circ} 19' O$) sólo se colectaron metales biodisponibles desde el agua intersticial de la columna de sedimento. Los sedimentos fueron colectados utilizando un HAPS corer (Figura 4), trasladados al Instituto de Geociencias e incubados por un período de 6 horas con un dispositivo de paleta que contenía los geles (Figura 5).

Las fechas de colección de las muestras fueron 17 Julio 2004 para la estación 2 (Phoenix); 31 de Agosto 2004 para la estación 3 (Torobayo), 28 de Septiembre 2004 para estación 1 (Chumpullo), y 19-20-21 de Diciembre 2004 para las estaciones correspondientes a la zona del Tornagaleones (E1, E2, E3 y E4). Las diferentes fechas de colección de datos entre las muestras de agua y sedimentos radican en el hecho que estos muestreos forman parte de dos proyectos diferentes del laboratorio de Geobentos de la Universidad Austral de Chile, financiados por Fondecyt 1050247.

3.3. EXTRACCIÓN DE MUESTRAS Y TRATAMIENTO

3.3.1 Fundamentos básicos Técnica Difusión de Gradiente en Capa Fina (DGT)

La teoría que envuelve la técnica DGT está basada en la propiedad de difusión que presentan los metales en presencia de hidrogeles y la capacidad que tienen para unirse a una resina quelante. (Davison y Zhang 1994).

DGT consta de un sistema de tres capas:

- 1) Una capa compuesta por una resina impregnada a un hidrogel.
- 2) Una capa difusora compuesta por un hidrogel.
- 3) Un filtro membrana.

Las capas de hidrogeles están compuestas por un gel de poliacrilamida que es un hidropolímero compuesto por cadenas de acrilamida unidos por uniones de agarosa. La resina que se encuentra impregnada al hidrogel en la capa 1 corresponde a Chelex 100 que es una resina que se une fuertemente al metal. Debido a que la resina Chelex 100 posee un grupo funcional iminodiacetato

(-OOC-CH₂-NH-CH₂-COO-), tiene un gran poder quelante. Complejos sobre una constante de formación de 10^{13} compiten con Chelex, de este modo cualquier complejo con una constante menor a 10^{11} transferirá el metal a la resina quedando este atrapado para su posterior elusión.

El filtro membrana protege la superficie de poliacrilamida del medio externo.

El dispositivo plástico que se usa para contener el DGT varía según su uso.

Para obtener muestras de agua, el dispositivo a usar se denomina Disco DGT y está compuesto por una base plástica de 2,5 cms, de diámetro donde se coloca el gel y el filtro y finalmente se asegura con una tapa de plástico que tiene una ventana de 2,0 cms de diámetro.(Figura 3) Para tratar muestras de sedimentos el dispositivo plástico es un ensamblaje del mismo material llamado paleta de sondeo, la cual posee una ventana de 1,8 cms x 15 cms donde es posible el contacto entre el gel DGT y el medio externo (Figura 5).

Una vez que el dispositivo es ensamblado junto a los geles se está en condiciones de capturar una masa de metal biodisponible en muestras *in situ*. Si el complejo metal-ligante natural es lábil; la unión se rompe permitiendo la formación de un complejo metal ligante con la resina y dando lugar a la formación de un flujo hacia el dispositivo de muestreo. La técnica DGT ha sido desarrollada para medidas *in situ* en ríos, lagos estuarios y en ambiente marinos (Zhang ,2001). Puede medir concentraciones con una sensibilidad de 10^{-12} moles L⁻¹. Con esta técnica se ha medido especies inorgánicas y especies orgánicas lábiles. La técnica DGT puede medir cualquier especie disuelta que esté unida a un agente ligante. Para metales traza esto incluye a Aluminio, Arsénico, Cadmio, Cobalto, Cromo, Cobre, Hierro, Manganeso, Niquel, Plomo y Zinc.

3.3.2 Muestras de Agua

Para obtener muestras de agua *in situ*, se procedió a depositar los discos dispositivos en los puntos de muestreo establecidos para este estudio en el estuario del río Valdivia (Estación 1 Chumpullo, Estación 2 Phoenix y Estación 3 Torobayo).

Los dispositivos se sumergieron en el río mediante una cuerda de plástico a la cual estaban adjuntos a tres niveles de profundidad; superficie (90 % respecto al fondo), profundidad media (50 % respecto al fondo) y fondo (10 % respecto a la interfase agua-sedimento); los dispositivos van unidos a la cuerda por una conexión de plástico desechable para que no se suelten y se procedió a poner un peso o bloque de cemento de 10-15 kg en la parte inferior de la cuerda para el establecimiento de ésta y una boya de plástico en la parte superior para su posterior identificación. Pasado el tiempo del muestreo el cual correspondió a 24 horas, se procedió a sacar los dispositivos del medio de muestreo, lavarlos con agua desionizada y guardarlos en bolsas plásticas para su posterior análisis en laboratorio.

Una vez en el laboratorio se desarmó el dispositivo separando cuidadosamente el gel difusor, Chelex 100 y la membrana filtro para someter las muestras a una digestión ácida con 10 ml de ácido Nítrico 1M.

Pasado el tiempo de digestión ácida las muestras se encontraron en condición de ser determinadas mediante técnicas analíticas de espectroscopia, en este caso de espectroscopia de masa con plasma inductivamente acoplado (ICP-MS).

Los análisis cuantitativos de concentración de las muestras analizadas se realizaron en los laboratorios de SERNAGEOMIN.

3.3.3 Muestras de Sedimentos

Para obtener muestras de sedimento *in situ*; se procedió a extraer las muestras en tubos core en 4 puntos establecidos como muestreo en la zona del Tornagaleones. (E1, E2, E3 y E4) mediante la técnica “HAPScorer” (Figura 4).

Estos tubos core fueron llevados al laboratorio para allí proceder a enterrar los dispositivos de muestreo que contienen el DGT a 10 cms de profundidad de la interfase agua sedimento, (dejando bien establecido con una marca el punto donde ocurre la interfase) por un período de tiempo establecido que fue de 6 horas para este estudio y bajo condiciones de temperatura ambiental y baja luminosidad.

Pasado el tiempo establecido para que se produzca la gradiente de difusión de metales y éstos puedan quedar atrapados en la resina Chelex 100, se sacaron los dispositivos de muestreo DGT del core, se lavaron con agua desionizada y se procedió a desmontarlos para la posterior extracción de las muestras. Para esto se procedió a cortar ventanas a diversas alturas de dispositivo de muestreo para extraer las partes del gel expuestas al flujo de metales pesados, y posteriormente eluirlas un tiempo determinado con un volumen de 10 ml Acido Nítrico 1M. Las muestras finalmente fueron analizadas mediante la técnica analítica espectroscopia de masa con plasma inductivamente acoplado (ICP-MS).

De esta manera además de obtener la concentración de metal biodisponible de estas muestras, fue posible obtener un perfil de concentración en función a profundidad de metales en sedimentos.

Los análisis cuantitativos de concentración de las muestras analizadas se realizaron en los laboratorios de SERNAGEOMIN.

En agua la difusión del o de los elementos a detectar se consideraron en condiciones de estado estacionario, en donde la remoción y producción están en equilibrio en periodos de tiempo razonable. Respecto a la columna de agua muestreada en este estudio; los dispositivos de DGT fueron expuestos a la matriz por un periodo de tiempo de 24 horas (2 ciclos mareales) para considerar la hidrodinámica estuarial de esta área. Los flujos de los elementos medidos en la columna de agua fueron transformados en concentraciones utilizando la formula de Davison *et al.* (1994) y la mecánica del cálculo se detalla en el Anexo 1.

En el caso de las mediciones de alta resolución (escala de milímetros) en columnas de sedimentos, la determinación de flujos o zonas de flujos verticales se obtuvo después de 6 horas de exposición del dispositivo DGT en la columna de sedimento.

A diferencia de la estimación de la concentración del analito en la columna de agua, para los sedimentos este cálculo puede ser realizado sólo si ciertas condiciones físico químicas son establecidas *a priori*. El flujo medido utilizando DGT, no es directamente equivalente a la concentración total disponible en la fase disuelta de los sedimentos. Esto se debe a que se desconoce la tasa de aporte de o de los elementos solubles de la fase sólida. Sin embargo, basado

en la extensa literatura y estudios realizados en sedimentos utilizando la técnica de DGT (Fones *et al.* 2001, Harper *et al.*, 1998; 1999; 2000; Krom *et al.*, 2002), en este estudio se consideró que la difusión de los elementos en solución fue dominante en relación a aportes desde la fase sólida, debido al tiempo de exposición del gel en la columna de sedimento, la cual fue de 6 horas.

3.4.- DETERMINACION DE EFICIENCIA DE UN DISPOSITIVO DGT

La determinación de la eficiencia del muestreador, disco dispositivo DGT, se hizo exponiendo el dispositivo en una solución conteniendo un metal a una concentración conocida. En este estudio se utilizó Fe a una concentración de 50 ppm. El dispositivo fue expuesto a la solución en condiciones de laboratorio por un período de 2 horas. La concentración medida bajo las condiciones mencionadas, y extrapolada a 6 horas -tiempo suficiente donde la concentración captada por el gel alcanza un nivel estacionario (Pizarro 2001)- correspondió a 45 ppm y su tasa de difusión fue de $0,125 \text{ mg L}^{-1} \times \text{minutos}^{-1}$.

Según protocolos de Zhang y Davison (1995), si la diferencia al comparar la concentración medida por DGT y la solución patrón no supera el 10%, la capacidad del gel para acumular concentración de metales es óptima. Para este caso este hecho se cumple ya que la concentración medida correspondió al 90% de la concentración patrón utilizada.

La cuantificación de los iones en el medio de muestreo se determinó considerando que éstos difunden a través del gel siguiendo un comportamiento descrito por la primera ley de Fick que permite determinar el flujo y las concentraciones de los iones de interés (ver Anexo 1).

4. RESULTADOS

4.1. MUESTRAS COLUMNA DE AGUA

En las estaciones 1, 2 y 3 (muestras columna de agua) se encontraron todos los elementos propuestos con valores significativos y superiores a los límites de detección referentes a la técnica de medición, ICP-MS.

Basado en las concentraciones detectadas por DGT, se distinguen 3 grupos de elementos en las estaciones 1, 2 y 3.

Los elementos biodisponibles que presentaron las más altas concentraciones fueron Al ($6,3 \text{ mg L}^{-1}$) y Fe ($3,8 \text{ mg L}^{-1}$). Sin embargo Al fue el elemento que consistentemente presentó concentraciones superiores a todos los otros elementos analizados en este estudio y para todas las estaciones donde se estudió la columna de agua. (Tabla 1, 2 y 3; Figuras 6, 7 y 8)

Cu y Zn se encontraron en concentraciones que variaron entre $0,02$ y $0,28 \text{ mg L}^{-1}$. (Tabla 1, 2 y 3, Figuras 6, 7 y 8)

Un tercer grupo de elementos formado por Mn, Ni, Cr y Pb se encontraron en concentraciones que variaron entre $0,001$ y $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ (Tabla 1, 2 y 3, Figuras 6, 7 y 8).

Para los elementos del primer grupo, Al fue detectado con valores de $6,3 \text{ mg L}^{-1}$ en la estación 3 (Torobayo) en el dispositivo ubicado en la parte más profunda de la columna de agua. Sin embargo en la réplica 2 de la misma estación se detectó Al en una concentración de $2,1 \text{ mg L}^{-1}$ en el dispositivo de superficie (Tabla 3).

El valor más alto detectado para el elemento Fe también fue en la estación 3 (Torobayo) en el dispositivo ubicado en la parte más profunda de la columna de agua. Este valor corresponde a 3,8 mg L⁻¹ (Tabla 3).

Cu y Zn presentaron su concentración más alta (0,28 y 0,25 mg L⁻¹ respectivamente) en la estación 3, en el dispositivo de superficie (Tabla 3). Para el tercer grupo de elementos (Mn, Ni, Cr y Pb); Mn y Ni presentaron su mayor concentración en la estación 3, en el dispositivo más profundo de la columna de agua. Esta concentración correspondió a 0,11 mg L⁻¹ para Mn y 0,03 mg L⁻¹ para Ni. De este grupo el Cr fue detectado en su máxima concentración en aguas de la estación 3 superficial. La misma situación ocurre para el Pb el cual se encuentra en concentraciones de 0,02 mg L⁻¹ en la estación 3 y el dispositivo superficial.

4.2. MUESTRAS DE SEDIMENTOS

Del mismo modo en que se ordenaron las muestras analizadas para columna de agua, las muestras de agua intersticial de sedimento de las estaciones E1, E2, E3 y E4, se agruparon según la magnitud de la concentración detectada por el dispositivo DGT en 3 grupos.

Fe, Mn y Al comparten las más altas concentraciones detectadas: 13,5 g L⁻¹ (Tabla 5), 83 mg L⁻¹ (Tabla 6) y 32,8 mg L⁻¹ (Tabla 7) respectivamente. En un segundo grupo se encontraron los elementos Zn, Ni y Cr en donde Zn presentó una máxima concentración de 8 mg L⁻¹ (Tabla 8), Ni una máxima de 7 mg L⁻¹ (Tabla 9) y Cr una máxima de 7,9 mg L⁻¹ (Tabla 10).

Cu y Pb forman el tercer grupo de elementos detectándose en concentraciones máximas de 3,2 mg L⁻¹ para Cu y 0,1 mg L⁻¹ para Pb. (Ver Tablas 11 y 12 respectivamente).

De acuerdo a la distribución temporal de los elementos analizados en las columnas de sedimentos (Figuras 17 a la 24) no existe un patrón único para la distribución vertical (temporal) en la presencia de los elementos considerados. Un mismo elemento presenta diferentes tipos de perfiles dependiendo de la estación en la cual el dispositivo DGT fue introducido. La excepción aparentemente es el Pb, el cual presenta un perfil de concentración monótono desde la superficie hasta los 10 centímetros de profundidad para casi todas las estaciones (Figura 24). Incluso en la estación E1, existe una tendencia de aumento de Pb con la profundidad. En términos de concentración, Fe, Mn y Al presentaron los valores mas altos en las estaciones E3 y E4. En la estación E4, Fe y Mn presentan una tendencia de aumento hacia la superficie (Figura 17 y 18). Estos mismos elementos muestran para la estación E3 una región de máxima concentración a una profundidad de 4 centímetros (Figura 17 y 18; E3), la cual puede estar relacionada a una zonación biogeoquímica propia de la columna de sedimento en esa estación en particular. El tercer elemento más representado, Al, no muestra un patrón en la distribución vertical tan clara como los otros dos elementos, Fe y Mn, (Figura 19). Al, presenta un aumento hacia la superficie en los primeros centímetros de la columna de sedimento E3, talvez esto se relacione a un ligero aumento en la tasa de depositación de este elemento en particular respondiendo a algún tipo de proceso reciente en el Estuario del Río Tornagaleones.

Los perfiles de distribución vertical de la concentración de Zn son similares a los descritos anteriormente para Pb, con una pequeña variante para las estaciones E2 y E3 (Figura 20), en donde se detecta una máxima interna a los 6 centímetros de profundidad. Este comportamiento no se observa en las estaciones E1 y E4.

Los perfiles de Cr, Ni y Cu presentan una distribución vertical de concentraciones similares (Figuras 21, 22 y 23). Este patrón es particularmente cierto para la estación E4, en donde se observa un incremento hacia la superficie desde una profundidad de 4 centímetros. También para la estación E2, los 3 elementos presentan valores máximos por debajo de los 2-3 centímetros (Figura 22, 23 y 24). En cambio para la estación E1, Cr y Cu (Figuras 21 y 23) presentan perfiles diferentes y Ni no se detectó en el periodo muestreado (Figura 22).

5. DISCUSIÓN

Se realizó un estudio para medir concentración de metales en aguas y sedimentos de la zona del Estuario del Río Valdivia utilizando la técnica de gradiente de difusión en capa fina (DGT) propuesta y desarrollada por Davison y Zhang (1994). De este estudio se obtuvieron concentraciones biodisponibles de los metales analizados tanto para las muestras de columna de agua como para las muestras de agua intersticial de sedimentos.

Rozas (2001) argumenta que la importancia de realizar un estudio de biodisponibilidad radica en que no todas las formas químicas existentes en los efluyentes son tóxicas para los organismos. Por este hecho al determinar la concentración biodisponible de un metal, estamos determinando la concentración que es capaz de interactuar con la biota y producir daño dependiendo de su magnitud.

Una forma de cuantificar esta concentración es trabajar extrayendo metales acumulados por organismos vivientes; los cuales son incorporados a sus tejidos por simple difusión. La desventaja de este método es que se necesita un número considerable de ejemplares homogéneos y a esto se suma el hecho que no todas las especies son capaces de capturar todos los metales lábiles. Davison y Zhang (1994) propusieron la técnica DGT para medir concentraciones efectivas en agua de elementos que causan daño a la biota circundante. La técnica DGT utilizada en este estudio actúa como un análogo del comportamiento de bioacumulación de metales en biota y presenta la ventaja de tener la capacidad de capturar todos los metales lábiles. Esto ha sido demostrado en estudios de comparación de captura de concentraciones de metales entre bivalvos y DGT realizados por Webb y Keough (2002).

5.1. MUESTRAS DE COLUMNA DE AGUA

Una vez obtenidas las concentraciones biodisponibles de metales de las muestras analizadas; se intentó comparar con normas reguladoras vigentes. En este caso no existen estudios previos en la zona estudiada para poder relacionar los datos encontrados en el presente estudio y establecer parámetros en base a biodisponibilidad. Incluso las normas reguladoras existentes para calidad de Aguas (Norma Chilena DS90) se basan en la cantidad de metal total para establecer los límites de toxicidad.

Aún así se procedió a comparar los datos de agua encontrados en este estudio con los valores de la Norma Chilena DS90 en función de porcentajes respecto al límite establecido. De esta comparación se pudo observar con detalle el porcentaje de metal biodisponible respecto al límite de metal total establecido para cada metal analizado. Si bien era de esperar que las concentraciones biodisponibles no superaran el límite de metal total establecido; para el caso del elemento Al este hecho no fue el esperado. Aluminio a pesar que no presentó concentraciones mayores al 5% respecto a su máximo permitido en la estación 1 (Chumpullo) y 10% para la estación 2 (Phoenix), presentó valores que superaron por sobre un 25% al máximo permitido en la estación 3 (Torobayo). Esta variabilidad debería estar respondiendo a la hidrodinámica de la estación 3, ya que este punto de muestreo se encuentra en la desembocadura del río Cruces al río Valdivia. (Figura 9)

Los restantes metales analizados (Pb, Cr, Cu, Ni, Fe, Mn y Zn) presentaron una concentración que no supera a sus respectivas concentraciones máximas permitidas. Si bien se podría considerar que no representan una toxicidad por encontrarse bajo sus concentraciones máximas permitidas; no podemos aseverar que esas concentraciones sean inocuas para la biota circundante ya que

desconocemos que porcentaje de la concentración total de metal establecida por la norma corresponde al metal biodisponible. (Figuras 10-16)

Aluminio y Hierro presentan los valores de concentración más altos en las tres estaciones muestreadas. (Figuras 6-8)

Níquel y Zinc son los elementos que presentan el comportamiento más homogéneo en sus concentraciones en los tres puntos de muestreo y es en la Estación 3 (Torobayo) donde se encontraron las máximas concentraciones para todos los metales analizados en este estudio (excepto Mn que presenta sus máximas concentraciones en la Estación 2; Phoenix).

Una explicación a los valores encontrados en la Estación 3 se puede encontrar a que geográficamente este punto corresponde a la conjunción del Río Valdivia con el Río Cruces por lo cual es un punto de convergencia entre dos efluentes y recibe la descarga de ambos ríos.

Los valores encontrados en este estudio que data del año 2004 mostraron una concordancia en magnitudes con valores encontrados para muestras de agua en Humedales del río Valdivia, excepto para las muestras de Aluminio y Hierro (Informe Final CONAMA-UACH 2005).

Comparación de concentraciones encontradas en el Estuario río Valdivia (julio- septiembre 2004) con concentraciones de metales totales encontrados en humedales del río Cruces entre Abril-Diciembre 2004.

Elemento	Humedal río Cruces	Estuario río Valdivia
	Rango de concentraciones (mg L ⁻¹)	Rango de concentraciones (mg L ⁻¹)
Al	0,060- 0,300	0,080 – 6,300*
Cu	< 0,010	0,020 – 0,280
Cr	< 0,0010	0,001- 0,026
Fe	0,040- 0,170	0,007 – 3,800**
Mn	0,010 - 0,030	0,006 – 0,020
Ni	0,010 - 0,050	0,002 – 0,040
Pb	0,002-0,010	0,002 – 0,015
Zn	0,010-0,050	0,040 – 0,250

Fuente: Informe Final CONAMA-UACH 2005

* Los valores para Aluminio fluctuaron entre 0,08 y 0,5 mg L⁻¹ en las estaciones Chumpullo y Phoenix. El valor de 6,3 mg L⁻¹ corresponde a una máxima aislada encontrada en la estación Torobayo.

** Los valores para Hierro fluctuaron entre 0,07 y 0,3 mg L⁻¹ en las estaciones Chumpullo y Phoenix. El valor de 3,8 mg L⁻¹ corresponde a una máxima aislada encontrada en la estación Torobayo.

Estudios anteriores realizados en el río Valdivia y Calle-Calle (Análisis redes de vigilancia calidad de aguas terrestres, etapa II, Dirección General de Aguas 1995) indican valores promedio de 0,02 mg L⁻¹ entre los años 1987 y 1992 para el elemento Cobre; valor bajo los encontrados en el presente estudio.

Un estudio más actualizado de la Dirección General de Aguas (Álamos y Peralta, 2005) entrega una concentración promedio de 0,4 mg L⁻¹ para el elemento Hierro entre el río Valdivia y el

Calle-Calle datos que concuerdan con las concentraciones encontradas en las estaciones 1 y 2 (Chupullo y Phoenix) pero inferiores a los valores encontrados en la estación 3 (Torobayo) que es la estación que recibe el efluente del Río Cruces y es la que presenta mayores valores de concentración para todos los metales analizados.

5.2. MUESTRAS DE SEDIMENTOS

El problema que presenta el uso de las muestras de sedimento es que éstas no proporcionan una estimación directa de los metales pesados disponibles para la biota (Bryan y Hummerstone, 1977; Lyngby y Bryx, 1987), pues pueden estar en una forma química no disponible para los organismos, y por lo tanto no son capaces de absorberlo (Luque *et al.*, 1998).

La técnica DGT soluciona este problema ya que posee la propiedad de extraer el metal lábil existente desde el agua intersticial de los sedimentos.

En la mayoría de estudios ecotoxicológicos, los efectos tóxicos son relacionados con la concentración total de metal disponible. Aún así las guías y legislaciones internacionales se basan en la concentración total de metal en sedimentos. (Zhang and Davison, 2000). Entonces al igual que para las muestras de columna de agua; nos encontramos con el hecho que no existe un parámetro cuantitativo de biodisponibilidad aplicado a la zona del estuario del río Valdivia para poder estimar el verdadero impacto que pueden causar las concentraciones de éstos metales en la biota.

Por lo tanto sólo se puede hacer una observación de los valores encontrados en este estudio esperando que sirva como precedente para algún próximo estudio de este estilo en la misma zona.

Los perfiles de sedimentos no presentaron patrones únicos en su distribución vertical, varían según la estación y la mayoría de los metales analizados presentaron un aumento en sus concentraciones en la zona de la superficie del perfil, comportamiento que es más notorio en las estaciones E3 y E4 que corresponden al costado de la salmonera Granja Marina Tornagaleones S.A. e interior de ésta respectivamente. De este hecho se puede inferir tras observar los perfiles, que si el aumento de concentración ocurre en la zona cercana a la interfase; este aumento se puede atribuir a procesos de depositación geoquímicos o a actividades antrópicas que estén interfiriendo en la zona.

El hecho de que los demás metales analizados (Cr, Ni, Cu, Zn, Pb) presentan en la estación E4 un aumento de sus concentraciones en un factor del orden 10, se puede explicar a que tanto el Hierro como el Manganeso son metales de transición con características de ramoneadores (“scavengers”) de otros metales pesados sensitivos a cambios de redox como lo son el Cobre, Níquel y Cromo entre otros. Este comportamiento químico del Hierro y Manganeso puede explicar el motivo por el cual estos otros elementos siguen un patrón similar al Hierro en las estaciones analizadas. La presencia de Hierro y Aluminio en estas zonas también se puede explicar por la naturaleza de los suelos que corresponden al tipo trumao el cual es rico en Hierro y Aluminio. (Informe Final CONAMA-UACH 2005)

Comparando resultados con concentraciones de metales pesados disueltos en agua intersticial de sedimentos de la zona del santuario y aledaños (Informe Final CONAMA-UACH 2005) encontramos valores similares en magnitud en la Estación E4 para los metales Fe, Cr, Ni y Cu. Manganeso a pesar de presentar un aumento considerable en sus concentraciones, no alcanza los valores descritos en el estudio citado.

Comparación de concentraciones encontradas en sedimentos río Tornagaleones (Diciembre 2004) con concentraciones de metales pesados disueltos en agua intersticial de sedimentos en zona del Río Cruces (Diciembre 2004)

Elemento	Agua intersticial de sedimentos	Muestras Tornagaleones
	Rango de concentraciones (mg L⁻¹)	Rango de concentración en estación E4 entre interfase y 2,0 cms profundidad (mg L⁻¹)
Fe	5695-9726	940-13473
Mn	1298-2623	60-83
Cr	4-5	6-8
Ni	2,0-5,1	5,0-6,9
Cu	1,5-11,23	2,1-3,1

Fuente: Informe Final CONAMA-UACH 2005

Aparentemente los patrones de distribución vertical de los perfiles encontrados en este estudio, son el resultado de un cambio en las entradas y/o cambios en el patrón de sedimentación en las estaciones mencionadas. Existe la probabilidad que el desarrollo industrial de esta región del sistema estuarial del río Tornagaleones que comenzó hace más de una década sea un factor en el cambio registrado por los sedimentos para estos elementos.

Las fluctuaciones observadas en la concentración de metales pesados en los sedimentos, pueden tener su causa debido a múltiples factores como procesos físicos que diluyen y redistribuyen las partículas (Cavaleri, 1980), efectos de salinidad, erosión y resuspensión de sedimentos (Long &

Lewis, 1987, Cisternas 1992), procesos químicos y geológicos, todos éstos asociados con las múltiples entradas de fuentes naturales e industriales (Nelson 1996).

En resumen, al contar con la técnica DGT para determinar biodisponibilidad de metales trazas en columna de agua y aguas intersticiales, se podrían realizar nuevos monitoreos en la zona para tener una línea de base de datos y establecer parámetros para poder comparar y detectar cambios importantes de impacto toxicológico en esta zona o en zonas donde se quiera desarrollar esta técnica. Como no es posible comparar estos datos con las normas vigentes basadas en concentraciones de metales totales, no tenemos una certeza sobre si realmente las normas establecidas son las más adecuadas para servir de patrón indicador de toxicidad en biota o si están mal dimensionadas en el rango de toxicidad ya que desconocemos a que porcentaje del metal total corresponde la concentración biodisponible.

6. CONCLUSIONES

- Todos los elementos analizados para muestras de agua se encontraron en concentraciones sobre el límite de detección de ICP-MS.
- De las muestras analizadas en agua mediante la técnica DGT, se observa que Aluminio y Hierro son los elementos que presentan mayores concentraciones (Al $6,3 \text{ mgL}^{-1}$, Fe $3,8 \text{ mgL}^{-1}$). Ambas registradas en la profundidad fondo de la Estación 3 (Torobayo).
- Respecto a los límites establecidos por la Norma Chilena DS90. Aluminio supera este límite en la profundidad fondo de la Estación 3 (Torobayo) presentando una concentración de metal biodisponible de $6,3 \text{ mg L}^{-1}$ que supera a su máximo establecido que es de $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ para metal total. De este modo en este punto de muestreo específico la concentración biodisponible de Aluminio sobrepasa la regulación vigente por un 26%.
- Todos los metales analizados en muestras de aguas presentaron sus más altas concentraciones en la Estación 3 (Torobayo). Este punto de muestreo específico corresponde a una convergencia entre el río Cruces y el Valdivia por lo cual la descarga de efluente que recibe es mayor y se debería reflejar en un aumento del flujo de transporte de elementos y por ende de las concentraciones captadas por el dispositivo DGT.
- La Técnica DGT integra las concentraciones de metales en el tiempo. De esta forma es posible obtener perfiles históricos de agua intersticial en sedimentos.
- La mayoría de los perfiles de sedimentos analizados presentan una abundancia en concentración de metales en la zona cercana a la interfase, este comportamiento es más evidente en los metales Hierro y Manganeseo.

- Hierro y manganeso presentaron altas concentraciones en muestras de agua intersticial de sedimentos correspondientes a la Estación E4; zona de la Granja Marina Tornagaleones (Fe $13,5 \text{ g L}^{-1}$ y Mn 83 mg L^{-1}) En este lugar específico de muestreo los metales Cr, Ni, Cu, Zn, Pb presentaron un aumento considerable en sus concentraciones en la zona cercana a la interfase, hecho que se puede explicar por la propiedad ramoneadora de Fe y Mn que se encuentran en altas concentraciones en esta estación.

7. BIBLIOGRAFÍA

Álamos y Peralta (1995). Análisis redes de Vigilancia Calidad Aguas Terrestres. Estadística Hidroquímica Nacional, Etapa II. Décima Región. Departamento de Conservación y Protección de Recursos Hídricos. Dirección General de Aguas.

Bryan, G and Humberstone, L. (1977) Indicators of heavy metals contamination in the Looe Estuary (Cornwall) with particular regard to silver and lead. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 57. 75-92.

Cavaleri, L. (1980) Sediment transport in shallow lagoons, *Nuovo Cimento*, 3C, 527 – 540 in Heavy metals in sediments of the Venice Lagoon Donazzolo *et al.*, *Oceanologica Acta* 1984, 7:1.

Cisternas, M. C. (1992) Distribución espacial de fases sedimento de los estuarios Valdivia – Tornagaleones y Bahía de Corral, X Región. Tesis de pedagogía en Historia, Geografía y Educación Cívica. Facultad de Filosofía y Humanidades, Universidad Austral de Chile. 55 p.

CONAMA-UACH.2005. Estudio sobre origen de mortalidades y disminución poblacional de Aves acuáticas en el Santuario de la Naturaleza Carlos Anwandter en la Provincia de Valdivia. Informe Final. Dirección Regional Conama Xª Región de los Lagos-Universidad Austral de Chile.539pp.

Davison, W. and Zhang, H. (1994). In situ speciation measurements of trace components in natural waters using thin-film gels. *Nature.*, 367, 546-548.

Davison, W., Zhang, H. and Miller, S. (1994). Developing and applying new techniques for measuring steep chemical gradients of trace metals and inorganic ions at the sediment-water interface. *Mineral. Mag.*, 58A, 215-216.

Davison, W., Fones, G.R. and Grime, G.W. (1997). Dissolved metals in surface sediment and a microbial mat at 100 μm resolution. *Nature.*, 387, 885-888.

Fones, G. R., Davison, W., Holby, O., Jorgensen, B. B. and Thamdrup, B. (2001) High-resolution metal gradients measured by in situ DGT/DET deployment in Black Sea sediments using an autonomous benthic lander. *Limnol. Oceanogr.*, 46, 982-988.

Harper, M., Davison, W., Zhang, H. and Tych, W. (1998). Solid phase to solution kinetics in sediments and soils interpreted from DGT measured fluxes. *Geochim. Cosmochim. Acta.*, 62, 2757-2770.

Harper, M.P., Davison, W. and Tych, W. (1999). Estimation of pore water concentrations from DGT profiles: a modelling approach. *Aquat. Geochem.*, 5, 337-355.

Harper, M.P., Davison, W. and Tych, W. (2000). DIFS - a modelling and simulation tool for DGT induced trace metal remobilisation in sediments and soils. *Environ. Modell. Software*, 15, 55-66.

Krom, M.D., Mortimer, R.J.G., Poulton, S.W., Hayes, P., Davies, I.M., Davison, W., & Zhang, H. (2002) In-situ determination of dissolved iron production in recent marine sediments. *Aquatic Science.*, 64, 282-291.

Long, B. & Lewis, J. (1987) Distribution and community structure of the benthic fauna of the north shore of the Gulf of St. Lawrence described by numerical methods of classification and origination. *Mar. Biol.*, 95: 93 – 101.

Luque, C., Castellanos, E., Castillo, J., González, M., González Vilches, M.C. and Figueroa, M. (1998) Distribución de metales pesados en sedimentos de las Marismas del Odiel (Huelva, SO. España). *Cuaternario y Geomorfología.*, 12 (3-4), Págs. 77 – 85.

Lyngby, J. and Brix, H. (1987) Monitoring of heavy metal contamination in the Limfjord, Denmark, using biological indicators and sediment. *The Science of the total Environment.*, 64: 239 – 252.

Montgomery, D., and Dietrich, W. (1988) Where do channels begin. *Nature.*, 336 (6196): 232 – 234.

Nelson P. (1996) concentración de Metales Pesados en Invertebrados, Helófitos y Sedimento del Complejo Estuarial Valdiviano. Tesis Escuela de Biología Marina. Facultad de Ciencias 52p.

Paredes, M. (1998) Determinación de Metales Pesados en dos Especies de Bivalvos del Estuario de Valdivia y la Bahía de Corral (X Región) Mediante Análisis Electrotérmico. Tesis, Escuela de Biología Marina. Facultad de Ciencias. Universidad Austral de Chile. 57 p.

Pino, M., Perillo, G. and Santamarina, P. (1994) Residual fluxes in a cross section in the Valdivia river estuary, Chile. *Estuary, Coastal and Shelf Sciences* 38: 491 – 505.

Pizarro, J., Rubio, M. A. and Lira, G. (2001) Optimisation of an in situ sampling technique: analysis of Cu and Fe in aquatic systems. *Bol. Soc. Chil. Quim.*, 46, 281-285.

Rozas, H (2001) Estudio de la Contaminación por Metales Pesados en la cuenca del Llobregat. Tesis Doctoral. Instituto de Ingeniería Minera y Recursos Naturales. Universitat Politècnica de Catalunya.

Webb, J. A. and Keough, M. J. (2002) measurement of environmental tracemetal levels with transplanted mussels and diffusive gradients in thin films (DGT): a comparison of techniques. *Mar. Pollut. Bull.*, 44, 222-229.

Zhang, H. and Davison, W. (1995). Performance characteristics of the technique of diffusion gradients in thin-films (DGT) for the measurement of trace metals in aqueous solution. *Anal. Chem.*, 67, 3391-3400.

Zhang, H., Davison, W., Miller, S. and Tych, W. (1995). In situ high resolution measurements of fluxes of Ni, Cu, Fe and Mn and concentrations of Zn and Cd in porewaters by DGT. *Geochim. Cosmochim. Acta.*, 59, 20, 4181-4192.

Zhang, H. and Davison, W. (2000). Direct In Situ Measurements of Labile Inorganic and Organically Bound Metal Species in Synthetic Solutions and Natural Waters Using DGT. *Anal. Chem.*, 72 (no 18), 4447-4457.

Zhang, H. and Davison, W. (2001) In situ speciation measurements. Using diffusive gradients in thin films (DGT) to determine inorganically and organically complexed metals. *Pure Appl. Chem.*, 73, 9-15.

ANEXO 1

CALCULO DE LA CONCENTRACIÓN MEDIDA POR EL DISPOSITIVO DGT

La cuantificación de los iones en el medio de muestreo, se hace a partir de la consideración que estos iones difunden a través de un medio acuoso que corresponde al gel de poliacrilamida siguiendo un comportamiento descrito por la primera ley de Fick que permite determinar el flujo y las concentraciones de los iones de interés. (Davison et al 1994; Pizarro *et al*, 2001)

$$F = D C / \Delta g \quad (1)$$

Donde F : corresponde al flujo de difusión, D : coeficiente de difusión para cada metal ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$); C la concentración lábil del analito en solución bulk y Δg el grosor de la capa difusora

Puesto que el flujo es igual a la masa (M) por unidad de área (A) por unidad de tiempo (t), la ecuación 1 puede ser reescrita como:

$$M = DCtA / \Delta g \quad (2)$$

De este modo, la concentración de metal libre puede ser expresada como:

$$C = M \Delta g / DtA \quad (3)$$

Donde M es la masa es el metal acumulado por la resina, t es el desarrollo del tiempo y A es la superficie de la capa del hidrogel.

Para calcular la masa del metal acumulado en la resina gel (M) se usa la siguiente ecuación:

$$M = C_e (V_{HNO_3} + V_{gel}) / f_e \quad (4)$$

Donde C_e es la concentración del metal eluído en HNO_3 1 M (en $\mu\text{g L}^{-1}$), V_{HNO_3} corresponde al volumen de HNO_3 añadido a la resina gel para la elusión de la muestra, V_{gel} corresponde al volumen de la resina gel el que corresponde a 0,16 ml para dispositivos de columna de agua y 0,15 ml para dispositivo sediment probe y f_e es el factor de elusión para cada metal el cual es usualmente 0,8. (Davison, Zhang and Miller, 1994)

Así la concentración de metal medida por DGT (C_{DGT}) puede ser calculada usando la siguiente ecuación

$$C_{\text{DGT}} = M \Delta g / (D t A) \quad (5)$$

Donde Δg corresponde al grosor del gel difusor (0,8mm) más el grosor del filtro membrana, D es el coeficiente de difusión del metal en el gel, t es el desarrollo del tiempo y A es el área de exposición.

ANEXO 2: TABLAS

TABLA 1. CONCENTRACIÓN DE METALES BIODISPONIBLES EN COLUMNA DE AGUA ESTACIÓN 1 (CHUMPULLO).

Elementos	Réplica 1 (mg L ⁻¹)		Réplica 2 (mg L ⁻¹)		Réplica 3 (mg L ⁻¹)	
	Superficie	Fondo	Superficie	Fondo	Superficie	Medio
Al	0,290	0,111	0,233	0,125	0,115	0,207
Fe	0,170	0,096	0,072	0,073	0,092	0,130
Cu	0,065	0,083	0,089	0,089	0,172	0,039
Zn	0,082	0,087	0,092	0,088	0,134	0,067
Ni	0,002	0,021	0,022	0,021	0,019	0,023
Cr	0,001	0,007	0,001	0,001	0,001	0,001
Mn	0,015	0,007	0,009	0,008	0,006	0,010
Pb	0,005	0,003	0,003	0,002	0,003	0,003

Nota: Dispositivos correspondientes a profundidad medio para réplica 1 y 2 y profundidad fondo para muestra 3 fueron perdidos.

TABLA 2. CONCENTRACIÓN DE METALES BIODISPONIBLES EN COLUMNA DE AGUA ESTACIÓN 2 (PHOENIX).

Elementos	Réplica 1 (mg L ⁻¹)		Réplica 2 (mg L ⁻¹)
	Superficie	Fondo	Fondo
Al	0,504	0,090	0,080
Fe	0,330	0,084	0,105
Cu	0,131	0,101	0,071
Zn	0,120	0,085	0,065
Ni	0,023	0,020	0,021
Mn	0,015	0,010	0,009
Pb	0,014	0,009	0,009
Cr	0,004	0,001	0,004

Nota: En réplica 2, el dispositivo de muestreo superficie fue perdido.

TABLA 3: CONCENTRACIÓN DE METALES BIODISPONIBLES EN COLUMNA DE AGUA ESTACIÓN 3 (TOROBAYO)

Elementos	Réplica 1 (mg L ⁻¹)			Réplica 2 (mg L ⁻¹)	
	Superficie	Medio	Fondo	Superficie	Fondo
Al	0,190	0,340	6,300	2,120	0,284
Cu	0,163	0,023	0,185	0,281	0,148
Zn	0,153	0,036	0,142	0,253	0,115
Fe	0,122	0,232	3,820	1,390	0,135
Mn	0,012	0,015	0,110	0,045	0,012
Ni	0,020	0,017	0,026	0,037	0,021
Cr	0,002	0,001	0,007	0,026	0,001
Pb	0,009	0,004	0,013	0,015	0,008

Nota: En réplica 2, el dispositivo medio se dañó en el proceso de muestreo. Celda con fondo gris indica que estos valores sobrepasan Norma Chilena DS 90 para concentración (total) de estos metales en agua.

TABLA 4: GUÍA DE CALIDAD DE AGUAS FLUVIALES SEGÚN NORMA CHILENA DS90.

Metal	Límite Máximo Permitido (mg L ⁻¹)
Aluminio	5
Hierro	5
Zinc	3
Cobre	1
Manganeso	0,3
Níquel	0,2
Cromo	0,05
Plomo	0,05

TABLA 5: PERFIL DE CONCENTRACIÓN DE HIERRO EN SEDIMENTOS EN RÍO TORNAGALEONES PARA ESTACIONES E1, E2, E3 Y E4.

E1		E2	
Profundidad (cm)	Concentración (mg L ⁻¹)	Profundidad (cm)	Concentración (mg L ⁻¹)
0,00	1,600	0,00	0,361
0,50	1,096	0,50	1,200
1,00	1,740	1,00	1,003
1,50	1,260	1,50	1,690
4,50	1,163	3,75	4,610
6,00	3,048	6,50	3,880
9,00	2,270	10,50	2,290
E3		E4	
Profundidad (cm)	Concentración (mg L ⁻¹)	Profundidad (cm)	Concentración (mg L ⁻¹)
0,5	14,430	0,00	13472,730
1,0	10,750	0,50	11948,900
1,5	11,340	1,00	13138,600
2,0	5,689	1,50	12724,240
4,0	16,330	3,25	939,600
6,25	12,780	6,00	1213,600
9,50	6,068	9,50	690,970

TABLA 6: PERFIL DE CONCENTRACIÓN DE MANGANESO EN SEDIMENTOS EN RÍO TORNAGALEONES PARA ESTACIONES E1, E2, E3 Y E4.

E1		E2	
Profundidad (cm)	Concentración (mg L ⁻¹)	Profundidad (cm)	Concentración (mg L ⁻¹)
0,00	0,028	0,5	0,000
0,50	0,028	1,0	0,028
1,00	0,042	1,5	0,014
1,50	0,028	2,0	0,042
4,50	0,042	4,0	0,056
6,00	0,042	6,25	0,056
9,00	0,042	9,50	0,014
E3		E4	
Profundidad (cm)	Concentración (mg L ⁻¹)	Profundidad (cm)	Concentración (mg L ⁻¹)
0,5	0,209	0,00	83,000
1,0	0,140	0,50	55,900
1,5	0,182	1,00	64,000
2,0	0,084	1,50	60,000
4,0	0,390	3,25	3,018
6,25	0,308	6,00	3,602
9,50	0,238	9,50	2,620

TABLA 7: PERFIL DE CONCENTRACIÓN DE ALUMINIO EN SEDIMENTOS EN RÍO TORNAGALEONES PARA ESTACIONES E1, E2, E3 Y E4.

E1		E2	
Profundidad (cm)	Concentración (mg L ⁻¹)	Profundidad (cm)	Concentración (mg L ⁻¹)
0,00	3,440	0,00	0,670
0,50	2,610	0,50	1,761
1,00	4,200	1,00	1,510
1,50	2,340	1,50	2,860
4,50	3,075	3,75	2,920
6,00	8,440	6,50	5,930
9,00	5,621	10,50	1,760
E3		E4	
Profundidad (cm)	Concentración (mg L ⁻¹)	Profundidad (cm)	Concentración (mg L ⁻¹)
0,5	32,820	0,00	5,517
1,0	19,075	0,50	10,754
1,5	16,274	1,00	5,602
2,0	19,250	1,50	5,517
4,0	18,043	3,25	9,914
6,25	25,776	6,00	10,500
9,50	9,709	9,50	26,130

TABLA 8: PERFIL DE CONCENTRACIÓN DE ZINC EN SEDIMENTOS EN RÍO TORNAGALEONES PARA ESTACIONES E1, E2, E3 Y E4.

E1		E2	
Profundidad (cm)	Concentración (mg L ⁻¹)	Profundidad (cm)	Concentración (mg L ⁻¹)
0,00	0,901	0,5	0,000
0,50	1,036	1,0	0,431
1,00	1,036	1,5	0,376
1,50	0,750	2,0	0,466
4,50	0,970	4,0	0,510
6,00	1,210	6,25	0,990
9,00	1,157	9,50	0,431
E3		E4	
Profundidad (cm)	Concentración (mg L ⁻¹)	Profundidad (cm)	Concentración (mg L ⁻¹)
0,5	1,160	0,00	1,350
1,0	1,357	0,50	1,050
1,5	1,644	1,00	0,740
2,0	5,310	1,50	0,901
4,0	2,970	3,25	1,090
6,25	8,005	6,00	0,968
9,50	1,820	9,50	3,336

TABLA 9: PERFIL DE CONCENTRACIÓN DE NÍQUEL EN SEDIMENTOS EN RÍO TORNAGALEONES PARA ESTACIONES E1, E2, E3 Y E4.

E1		E2	
Profundidad (cm)	Concentración (mg L ⁻¹)	Profundidad (cm)	Concentración (mg L ⁻¹)
0,00	0.000	0,5	0,000
0,50	0.000	1,0	0,230
1,00	0.000	1,5	0,254
1,50	0.000	2,0	0,198
4,50	0.000	4,0	0,380
6,00	0.000	6,25	0,380
9,00	0.000	9,50	0,380
E3		E4	
Profundidad (cm)	Concentración (mg L ⁻¹)	Profundidad (cm)	Concentración (mg L ⁻¹)
0,5	0,000	0,00	6,960
1,0	0,170	0,50	4,720
1,5	0,000	1,00	5,355
2,0	0,198	1,50	5,025
4,0	0,270	3,25	0,652
6,25	0,357	6,00	0,807
9,50	0,240	9,50	0,737

TABLA 10: PERFIL DE CONCENTRACIÓN DE CROMO EN SEDIMENTOS EN RÍO TORNAGALEONES PARA ESTACIONES E1, E2, E3 Y E4.

E1		E2	
Profundidad (cm)	Concentración (mg L ⁻¹)	Profundidad (cm)	Concentración (mg L ⁻¹)
0,00	0,129	0,5	0,000
0,50	0,032	1,0	0,000
1,00	0,049	1,5	0,016
1,50	0,032	2,0	0,032
4,50	0,032	4,0	0,032
6,00	0,065	6,25	0,049
9,00	0,032	9,50	0,016
E3		E4	
Profundidad (cm)	Concentración (mg L ⁻¹)	Profundidad (cm)	Concentración (mg L ⁻¹)
0,5	0,097	0,00	7,850
1,0	0,032	0,50	5,420
1,5	0,049	1,00	6,230
2,0	0,049	1,50	5,856
4,0	0,049	3,25	0,485
6,25	0,065	6,00	0,582
9,50	0,049	9,50	0,510

TABLA 11: PERFIL DE CONCENTRACIÓN DE COBRE EN SEDIMENTOS EN RÍO TORNAGALEONES PARA ESTACIONES E1, E2, E3 Y E4.

E1		E2	
Profundidad (cm)	Concentración (mg L ⁻¹)	Profundidad (cm)	Concentración (mg L ⁻¹)
0,00	0,131	0,5	0,000
0,50	0,000	1,0	0,000
1,00	0,196	1,5	0,000
1,50	0,131	2,0	0,000
4,50	0,170	4,0	0,131
6,00	0,238	6,25	0,145
9,00	0,210	9,50	0,000
E3		E4	
Profundidad (cm)	Concentración (mg L ⁻¹)	Profundidad (cm)	Concentración (mg L ⁻¹)
0,5	0,196	0,00	3,150
1,0	0,196	0,50	2,097
1,5	0,250	1,00	2,270
2,0	0,290	1,50	2,176
4,0	0,540	3,25	0,420
6,25	0,350	6,00	0,472
9,50	0,260	9,50	0,630

TABLA 12: PERFIL DE CONCENTRACIÓN DE PLOMO EN SEDIMENTOS EN RÍO TORNAGALEONES PARA ESTACIONES E1, E2, E3 Y E4.

E1		E2	
Profundidad (cm)	Concentración (mg L ⁻¹)	Profundidad (cm)	Concentración (mg L ⁻¹)
0,00	0,071	0,5	0,020
0,50	0,051	1,0	0,030
1,00	0,071	1,5	0,020
1,50	0,061	2,0	0,031
4,50	0,081	4,0	0,041
6,00	0,102	6,25	0,031
9,00	0,173	9,50	0,020
E3		E4	
Profundidad (cm)	Concentración (mg L ⁻¹)	Profundidad (cm)	Concentración (mg L ⁻¹)
0,5	0,041	0,00	0,071
1,0	0,041	0,50	0,056
1,5	0,041	1,00	0,051
2,0	0,041	1,50	0,051
4,0	0,071	3,25	0,051
6,25	0,051	6,00	0,041
9,50	0,041	9,50	0,081

ANEXO 3: FIGURAS

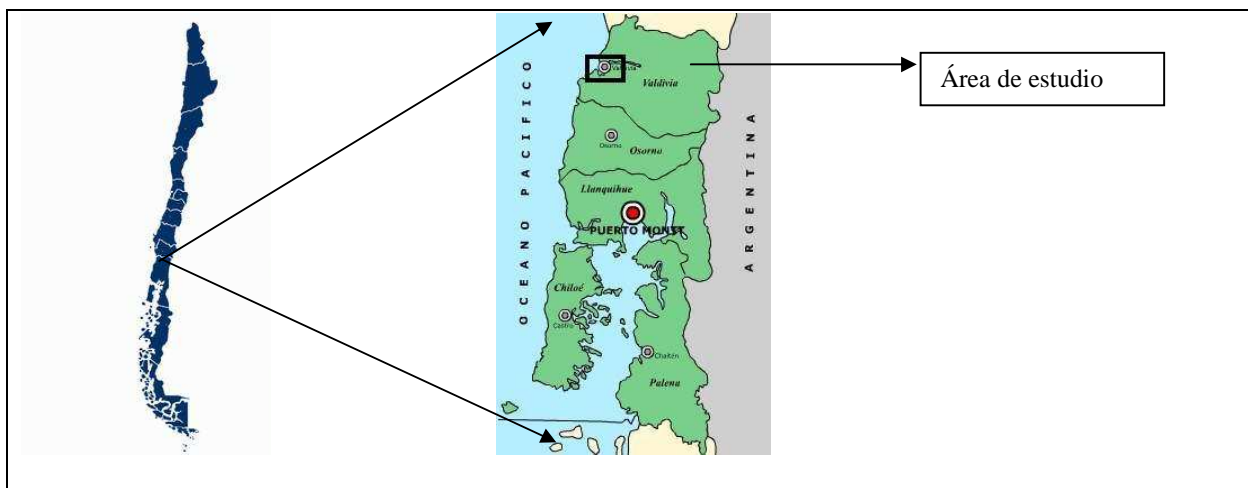


Figura 1: Zona correspondiente al Área de Estudio.

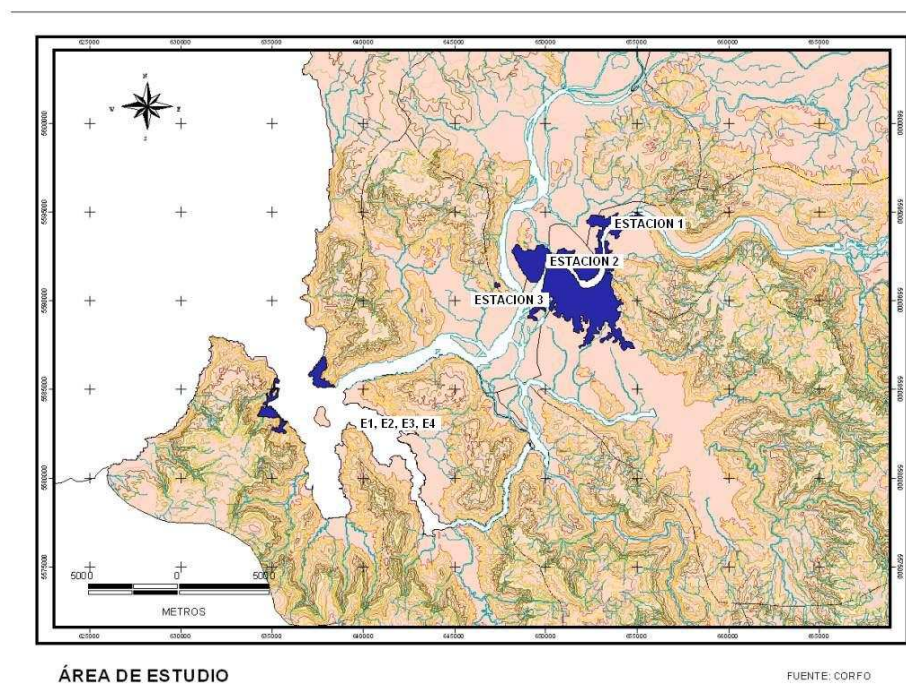


Figura 2: Área de estudio. Se observan las Estaciones 1 (Chumpullo), 2 (Phoenix) y 3 (Torobayo) a lo largo del Estuario del Río Valdivia. Las Estaciones E1, E2, E3 y E4 se encuentran en la boca del estuario del Río Tornagaleones.



Figura 3: Dispositivo tipo Disco DGT. Se observa en la foto el gel difusor y Chelex 100 sobre el dispositivo de plástico y cubierto por el filtro membrana.



Figura 4: HAPS Corer



Figura 5: Dispositivos DGT tipo disco para utilizar en muestras de columna de agua y paleta para muestras en sedimento.

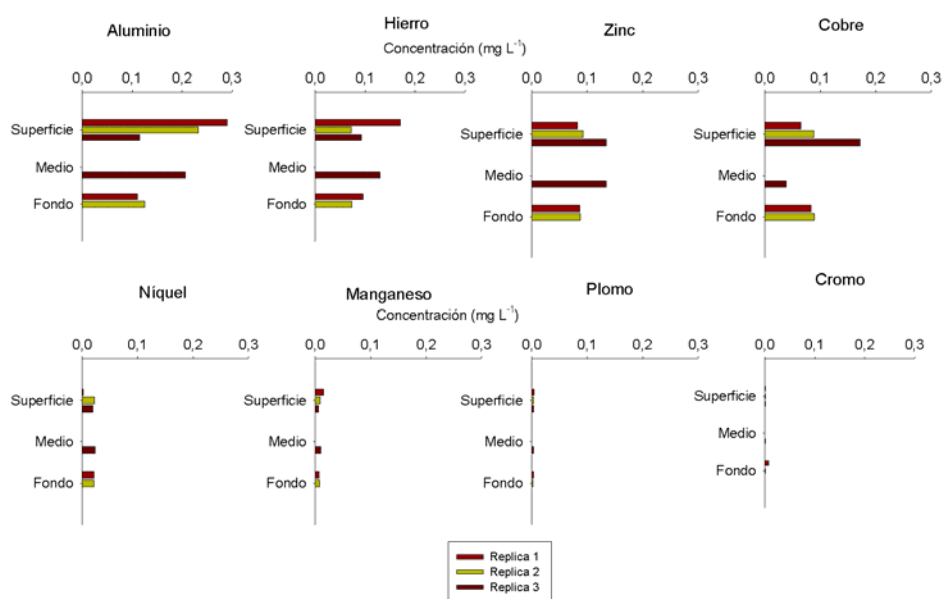


Figura 6: Concentración (mg L⁻¹) de metales analizados en Columna de Agua Estación 1(Chumpullo).

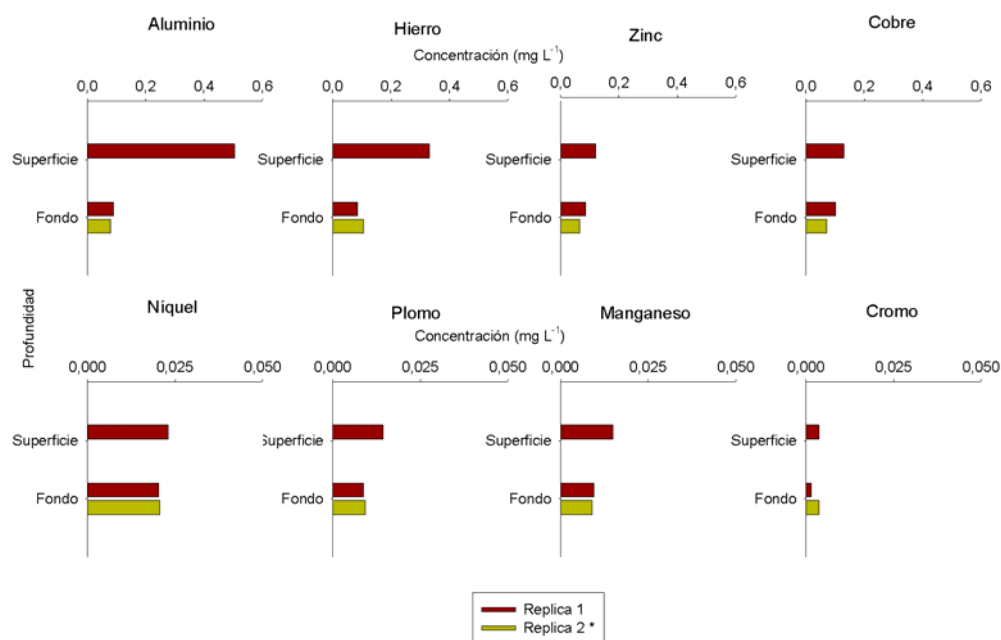


Figura 7: Concentración (mg L⁻¹) de metales analizados en Columna de Agua Estación 2 (Phoenix). *Muestra 2 superficie fue perdida en proceso de muestreo.

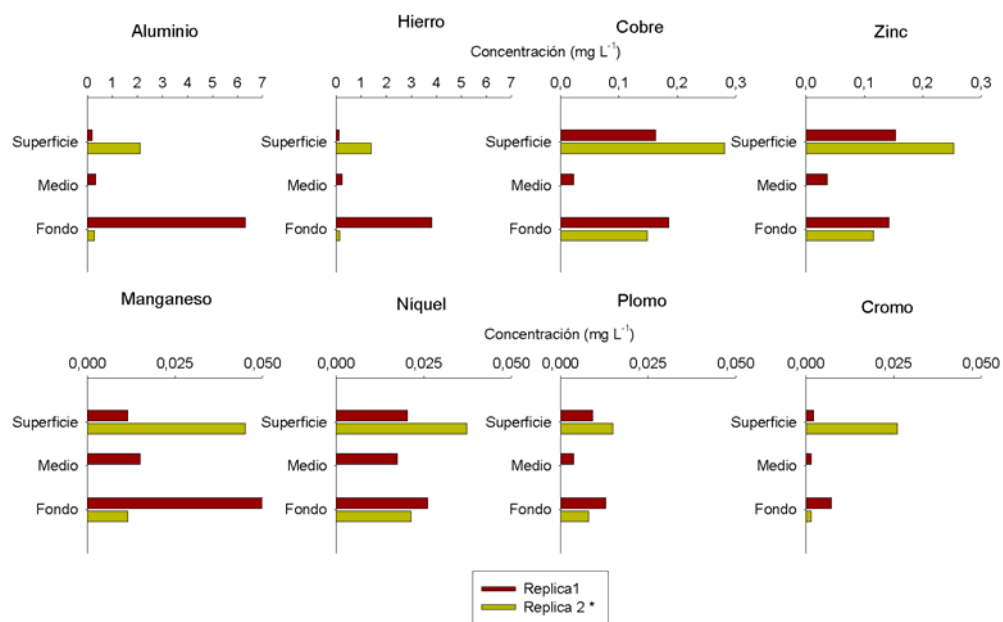


Figura 8: Concentración (mg L⁻¹) de metales analizados en Columna de Agua Estación 3 (Torobayo). *Muestra 2 medio fue perdida en proceso de muestreo.

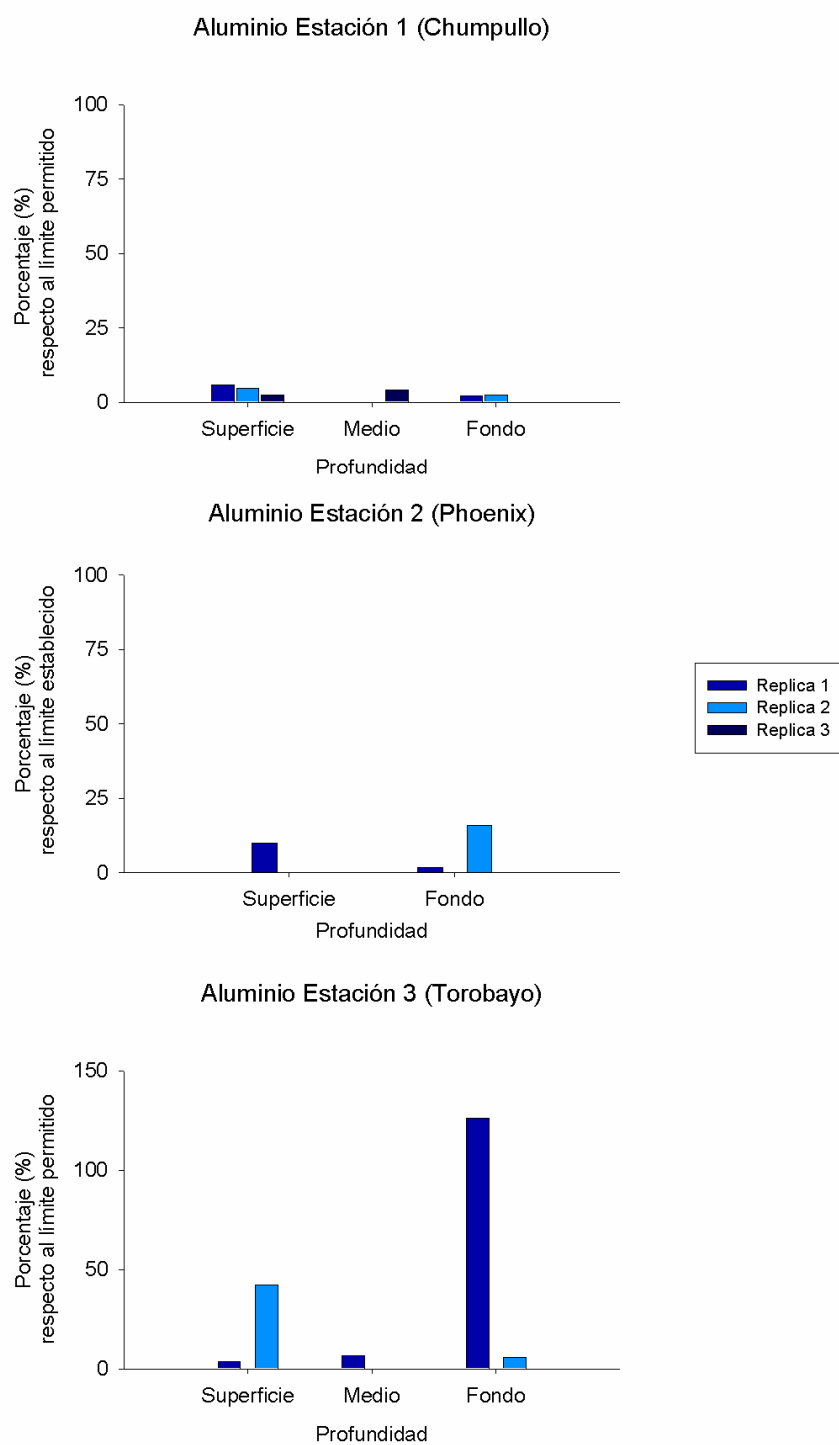


Figura 9: Concentración de Aluminio en muestras de columna de agua, expresada en porcentajes (%) respecto a su respectivo límite establecido por la Norma Chilena DS90. (100% = 5 mg L⁻¹)

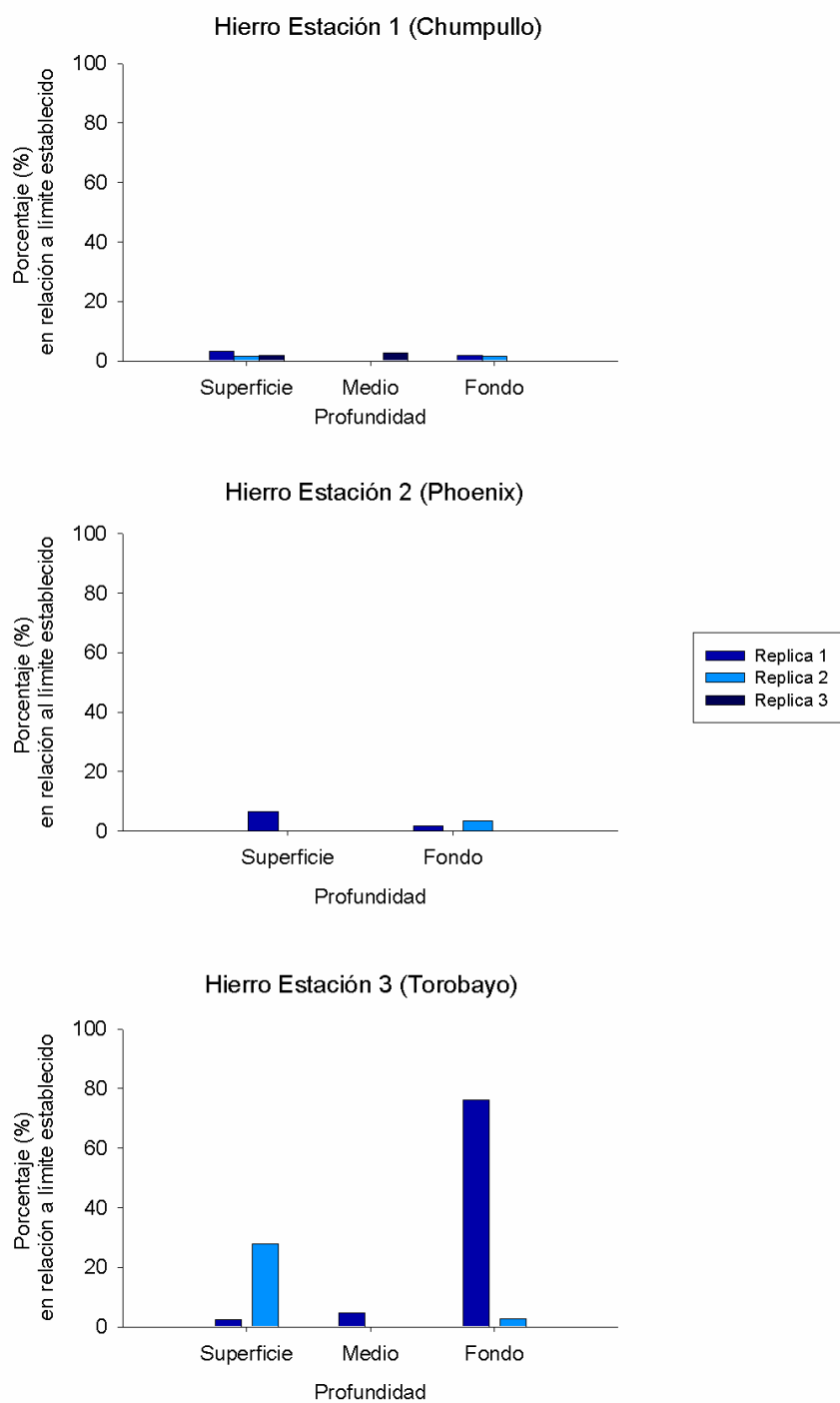


Figura 10: Concentración de Hierro en muestras de columna de agua, expresada en porcentajes (%) respecto a su respectivo límite establecido por la Norma Chilena DS90. (100% = 5 mg L⁻¹)

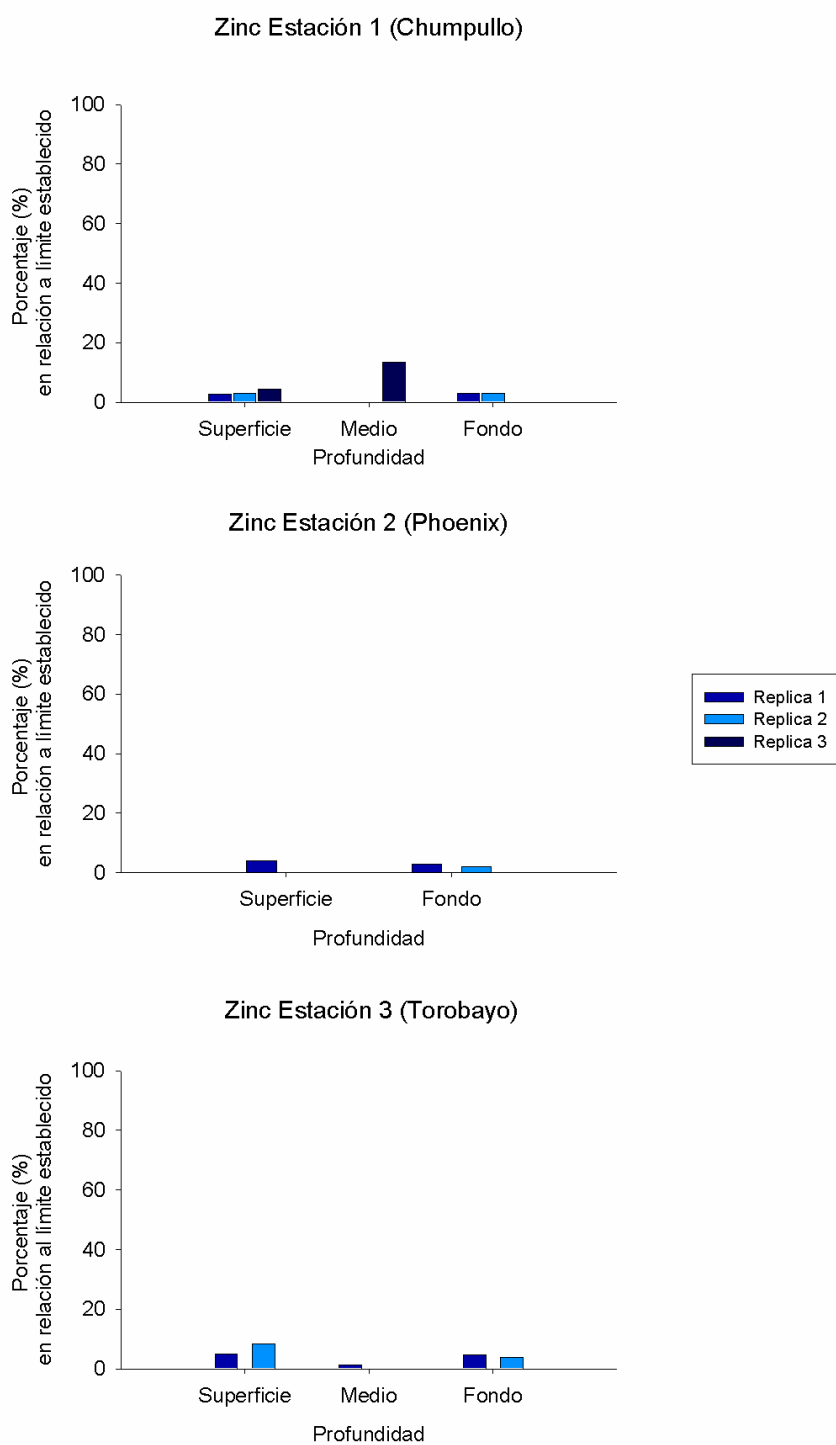


Figura 11: Concentración de Zinc en muestras de columna de agua, expresada en porcentajes (%) respecto a su respectivo límite establecido por la Norma Chilena DS90. (100% = 3 mg L⁻¹)

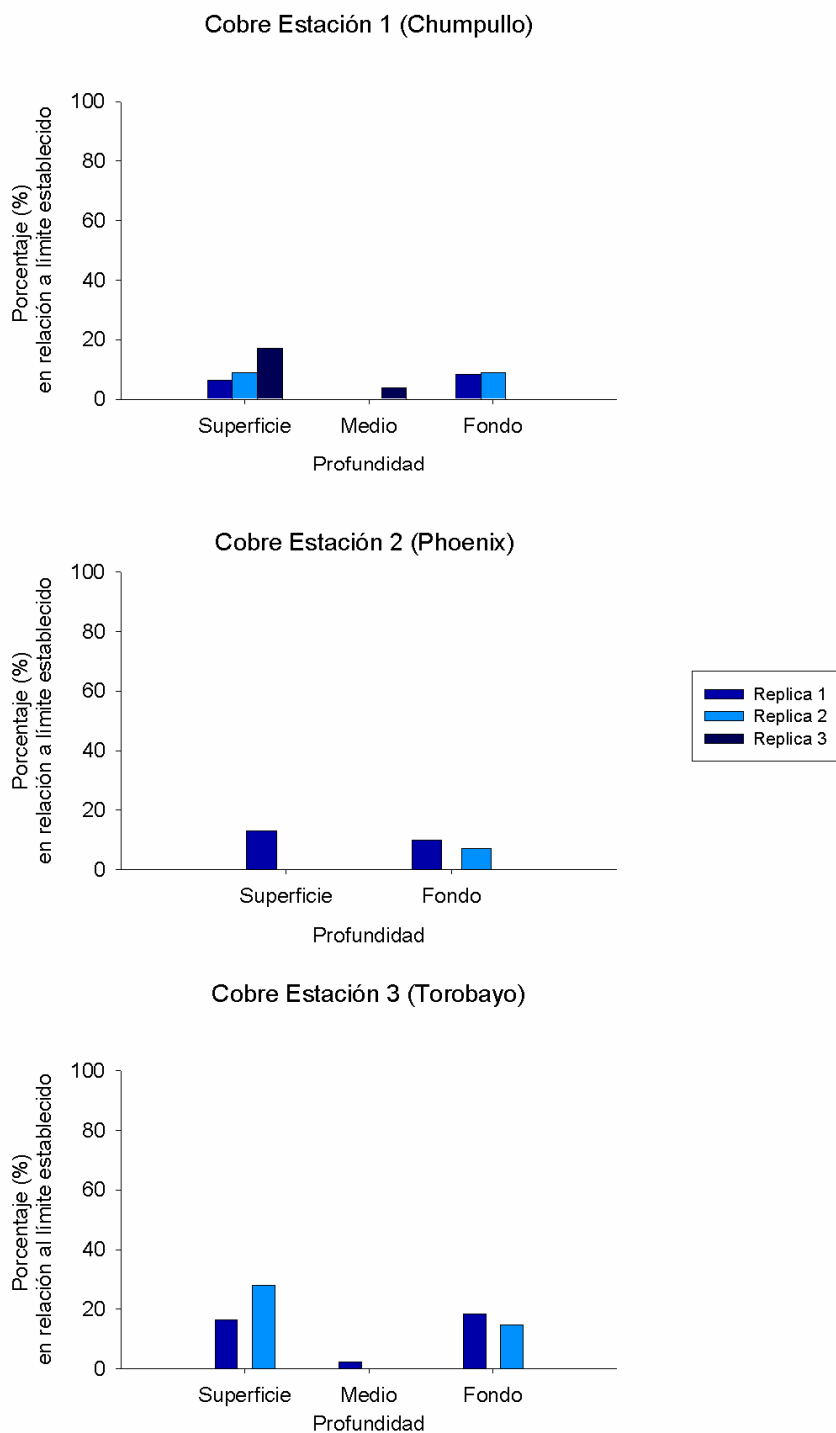


Figura 12: Concentración de Cobre en muestras de columna de agua, expresada en porcentajes (%) respecto a su respectivo límite establecido por la Norma Chilena DS90. (100% = 1 mg L⁻¹)

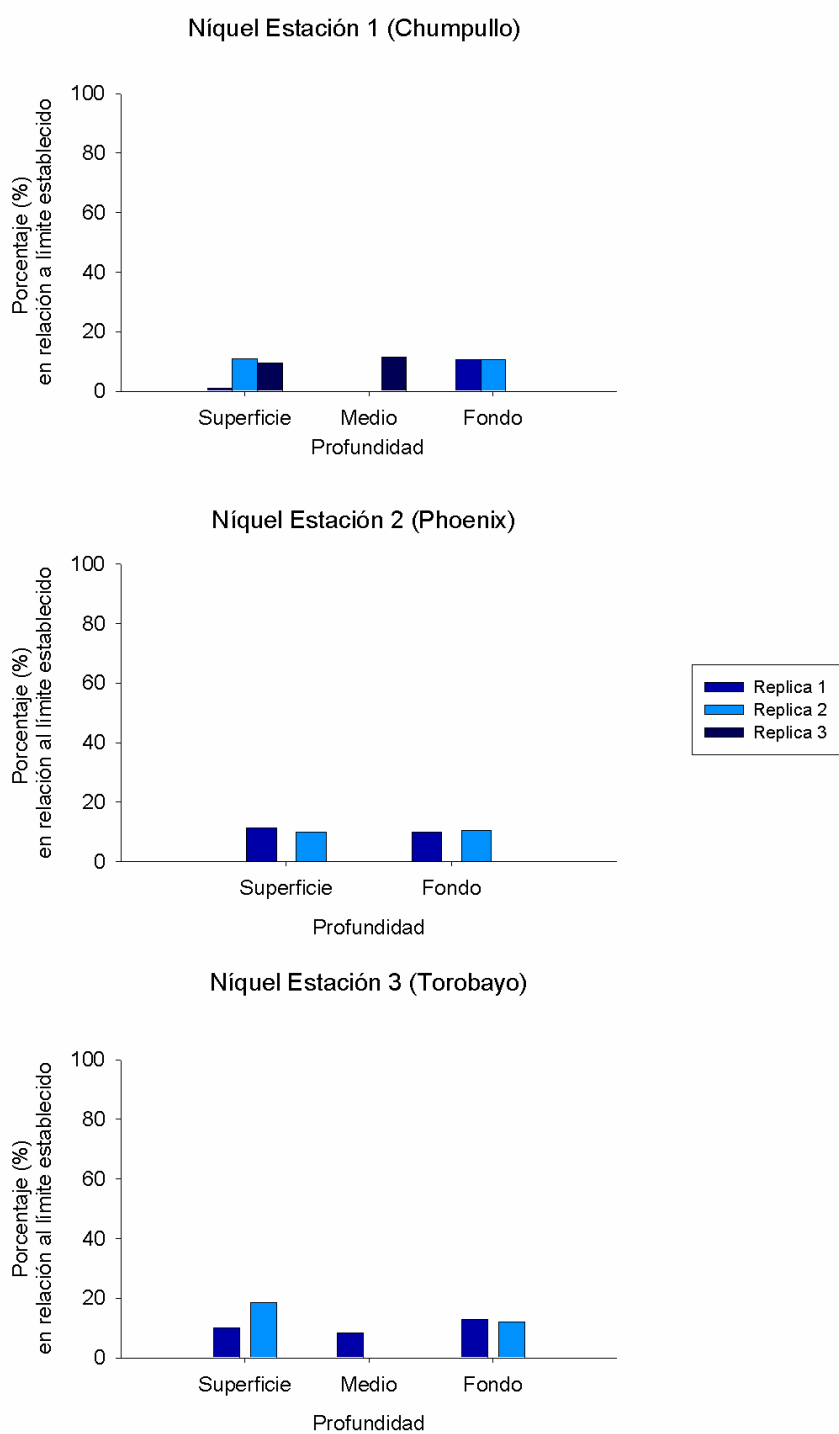


Figura 13: Concentración de Níquel en muestras de columna de agua, expresada en porcentajes (%) respecto a su respectivo límite establecido por la Norma Chilena DS90. (100% = 0,2 mg L⁻¹)

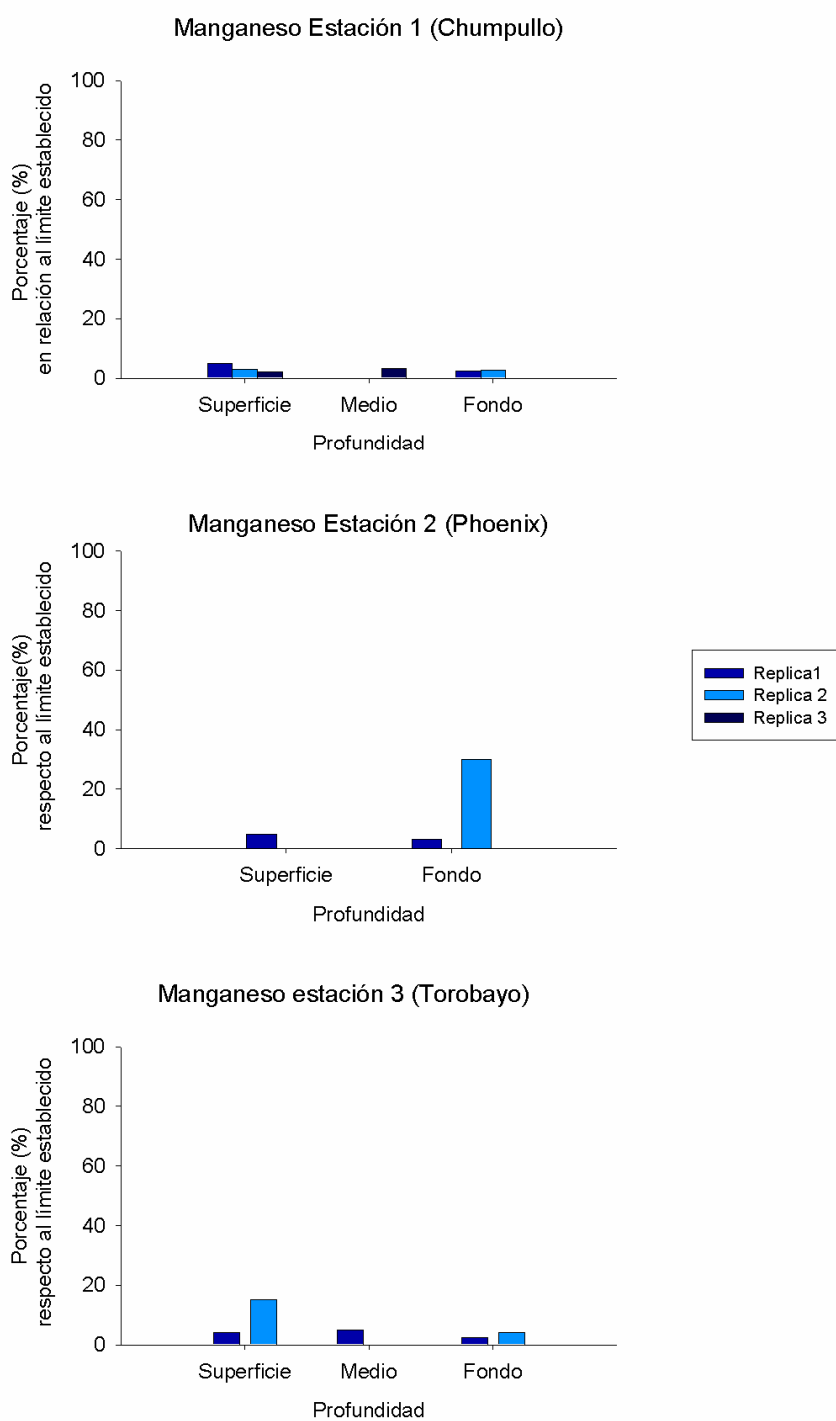


Figura 14: Concentración de Manganeso en muestras de columna de agua, expresada en porcentajes (%) respecto a su respectivo límite establecido por la Norma Chilena DS90. (100% = $0,3 \text{ mg L}^{-1}$)

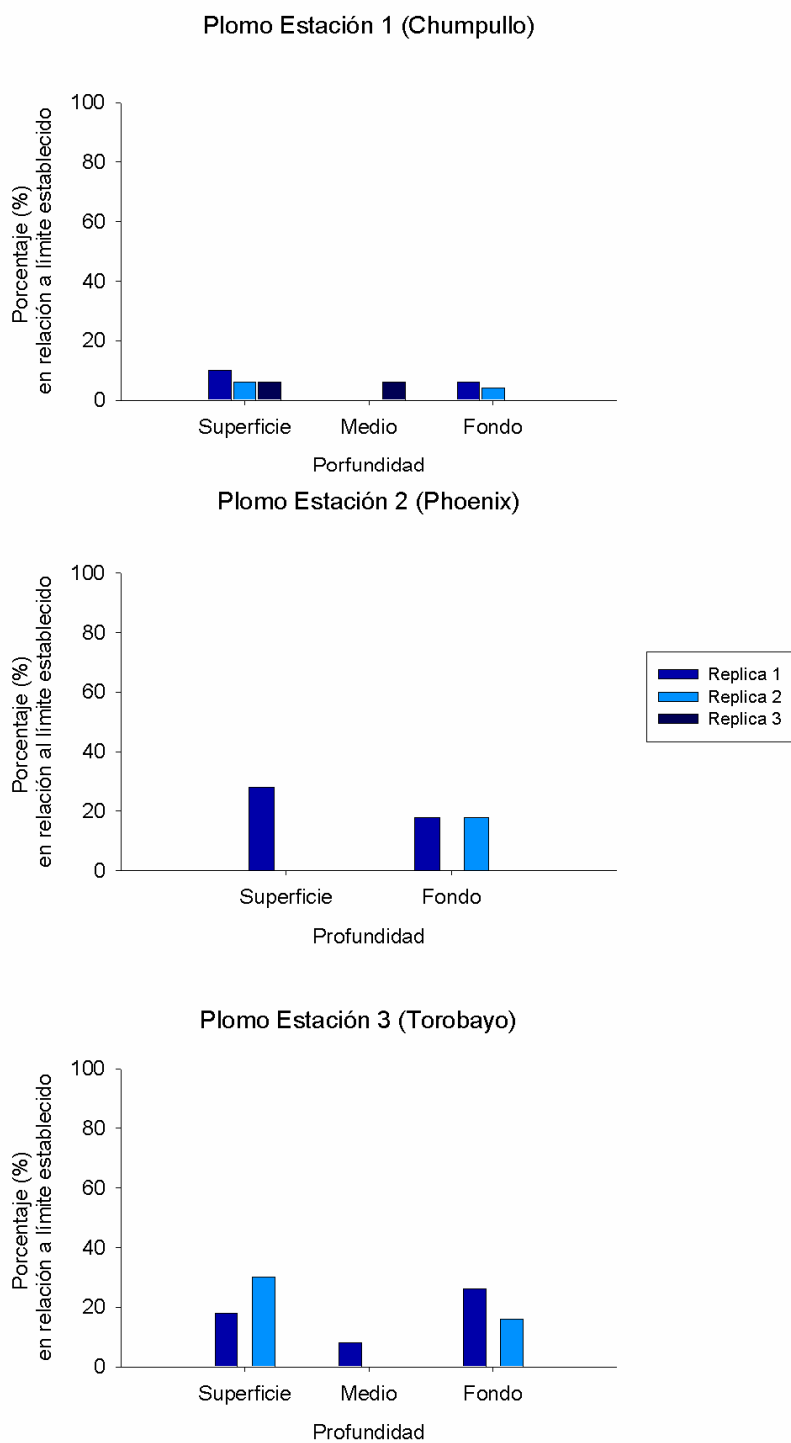


Figura 15: Concentración de Plomo en muestras de columna de agua, expresada en porcentajes (%) respecto a su respectivo límite establecido por la Norma Chilena DS90. (100% = 0,05 mg L⁻¹)

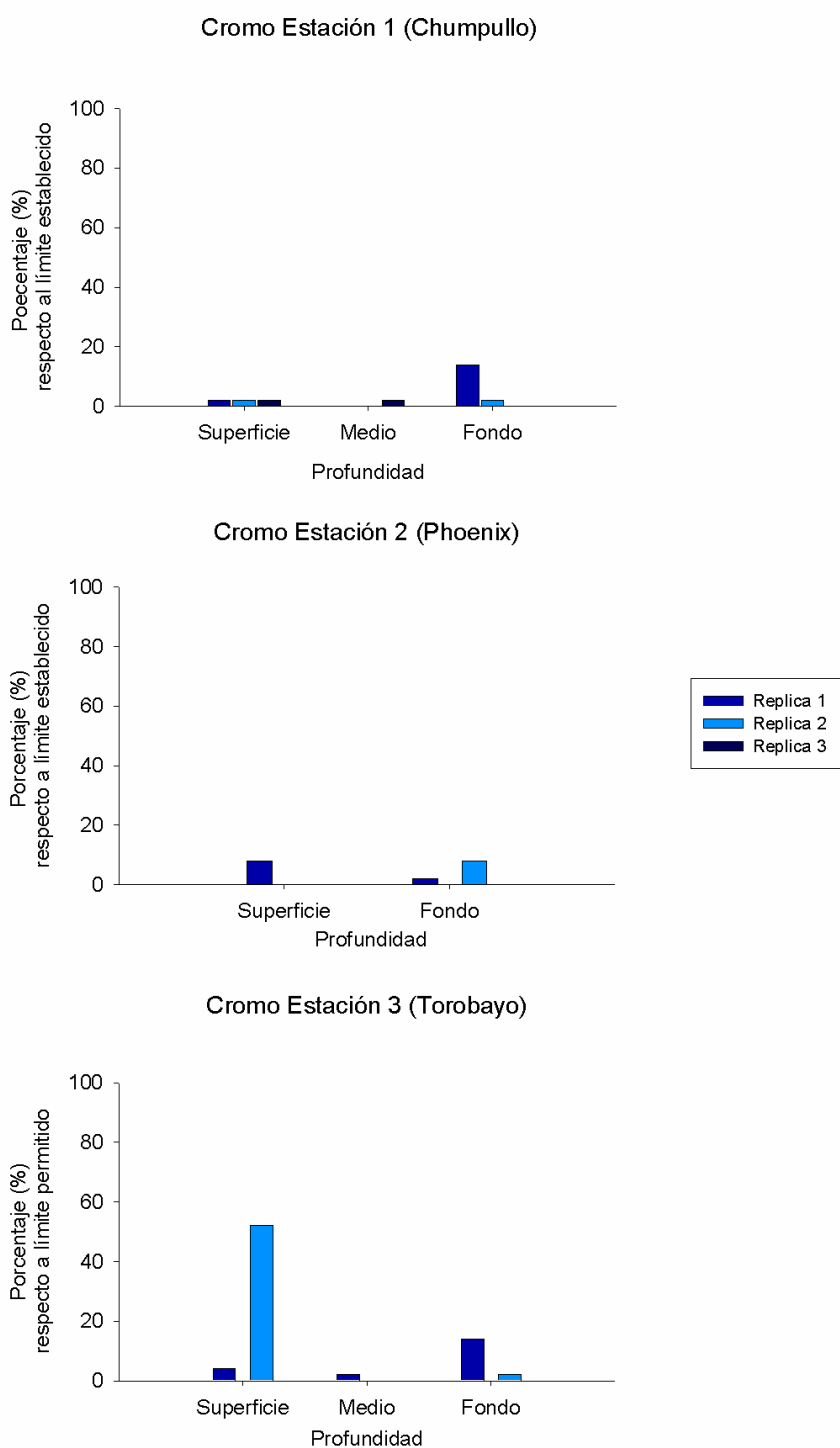


Figura 16: Concentración de Cromo en muestras de columna de agua, expresada en porcentajes (%) respecto a su respectivo límite establecido por la Norma Chilena DS90. (100% = 0,05 mg L⁻¹)

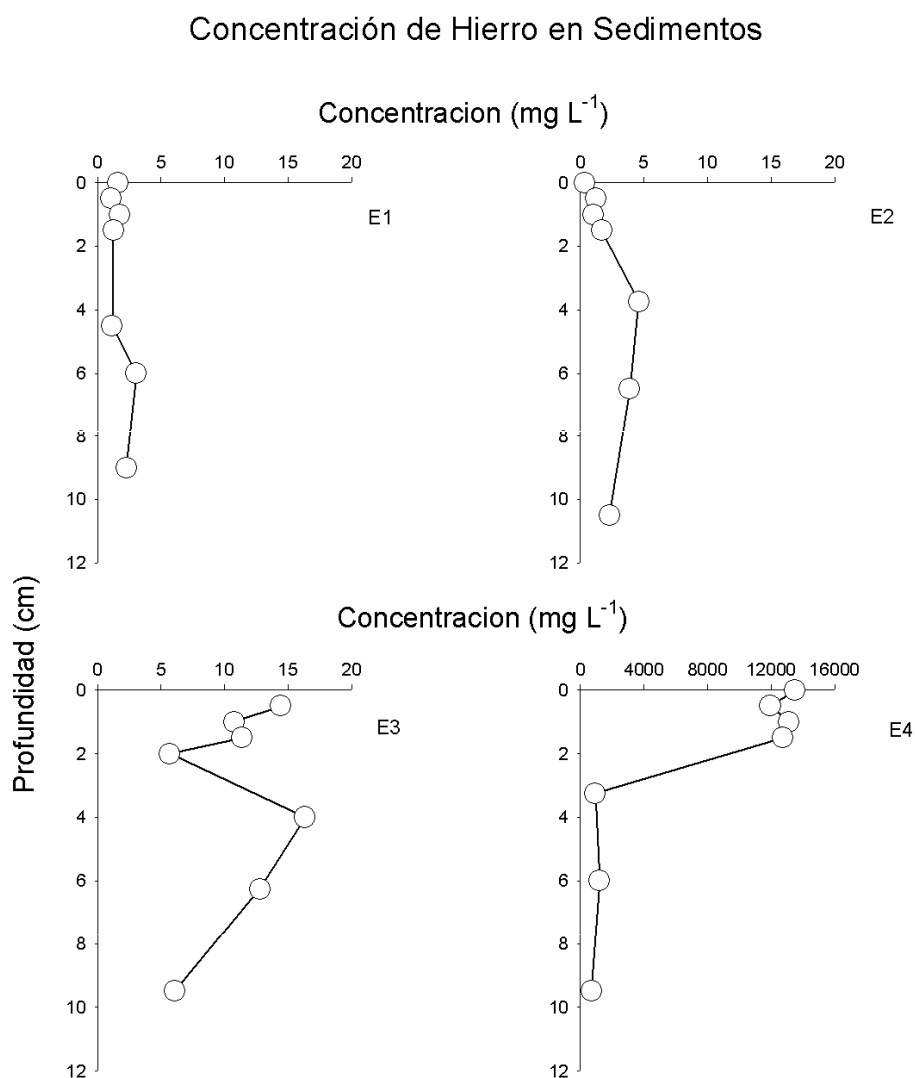


Figura 17: Perfil de Concentración de Hierro en mg L⁻¹ para muestras de agua intersticial de sedimentos en Estaciones Tornagaleones E1, E2, E3 y E4.

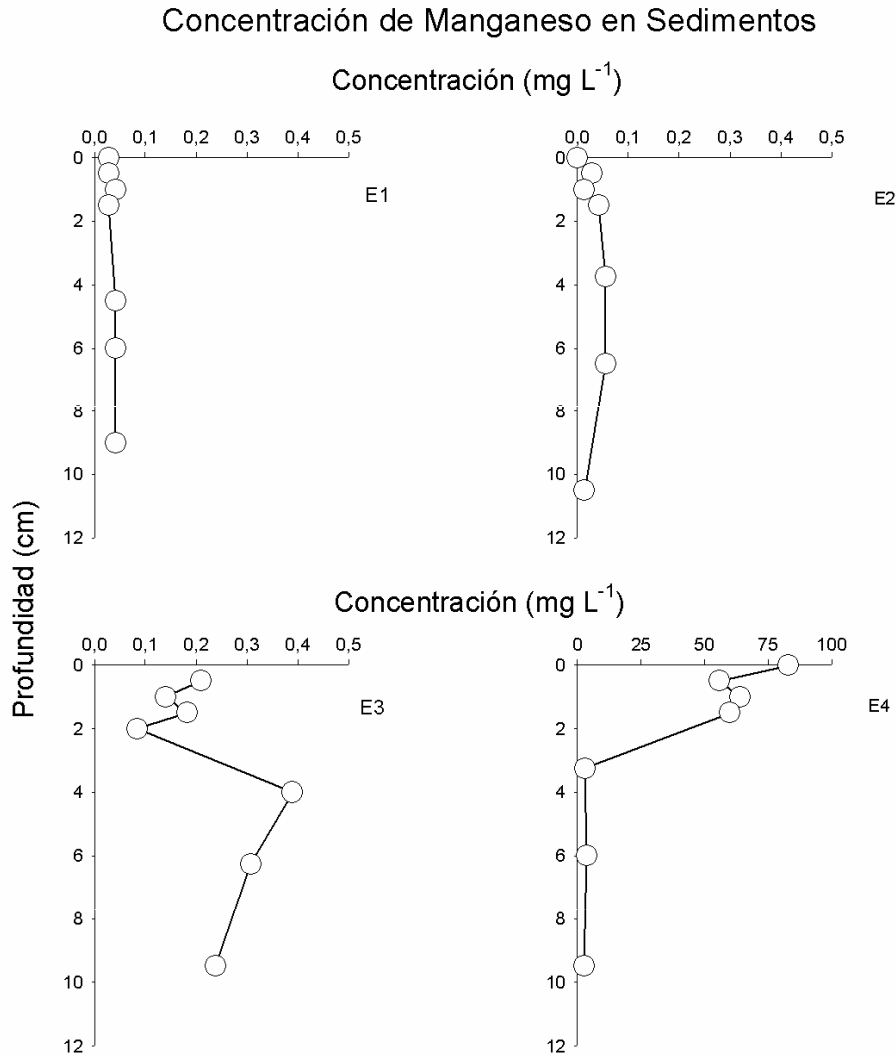


Figura 18: Perfil de Concentración de Manganeso en mg L^{-1} para muestras de agua intersticial de sedimentos en Estaciones Tornagaleones E1, E2, E3 y E4.

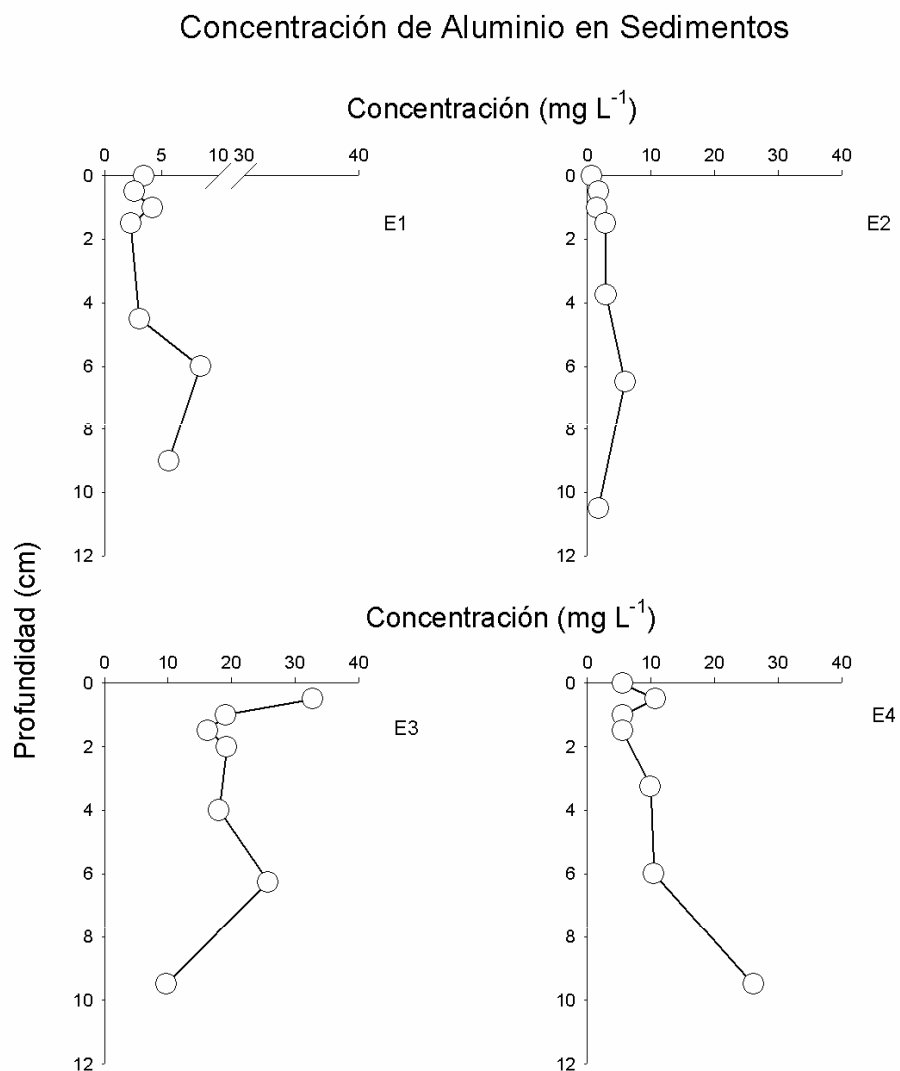


Figura 19: Perfil de Concentración de Aluminio en mg L^{-1} para muestras de agua intersticial de sedimentos en Estaciones Tornagaleones E1, E2, E3 y E4.

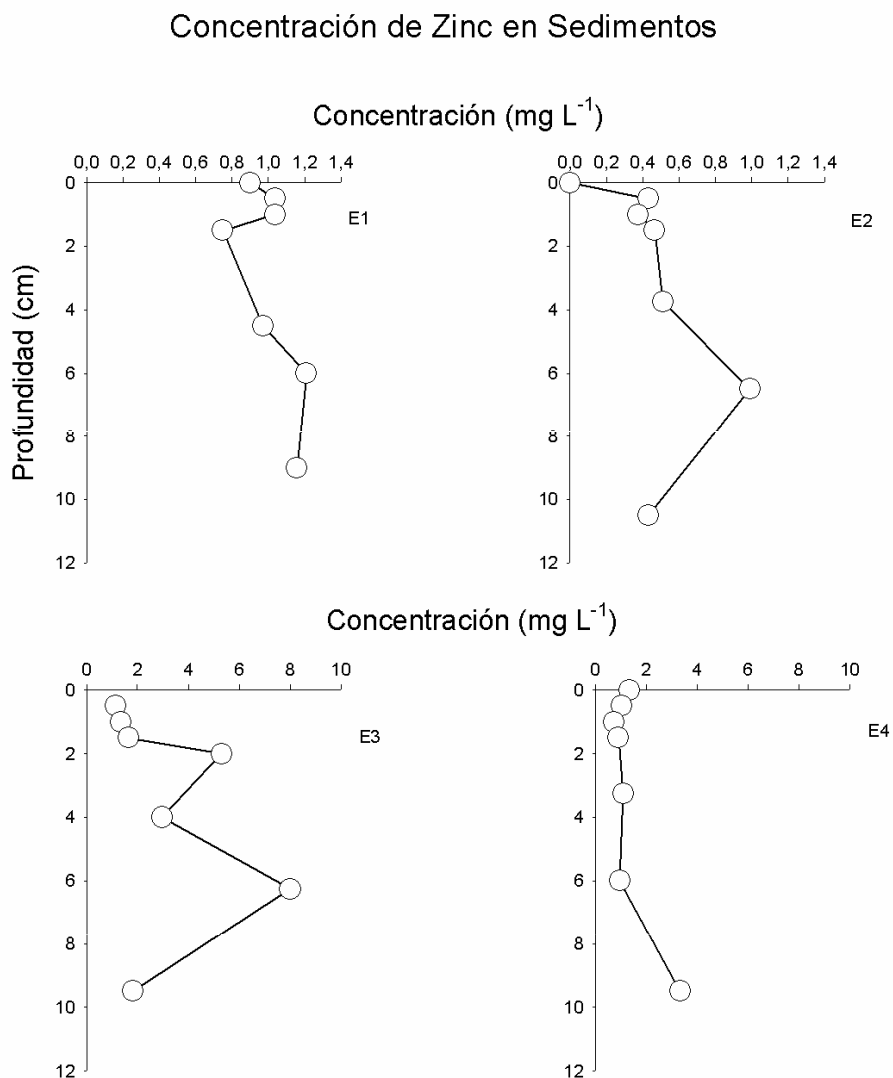


Figura 20: Perfil de Concentración de Zinc en mg L^{-1} para muestras de agua intersticial de sedimentos en Estaciones Tornagaleones E1, E2, E3 y E4.

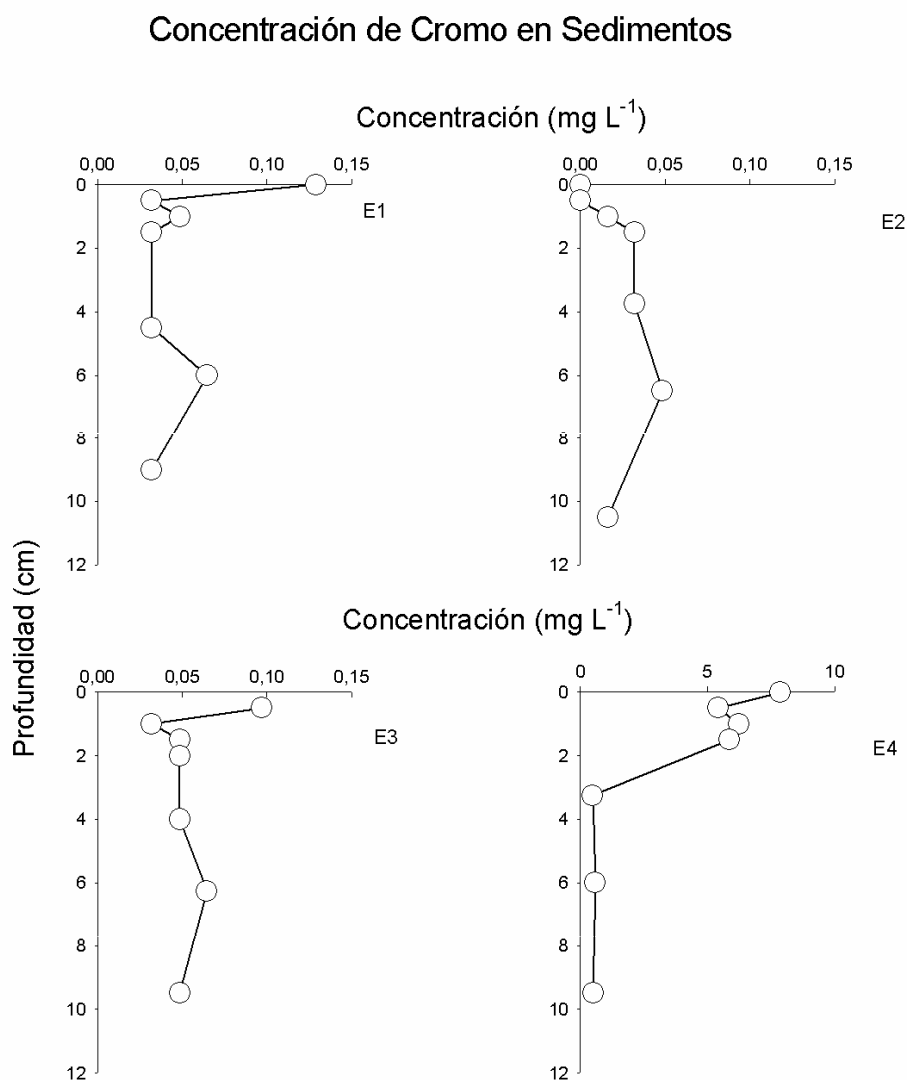


Figura 21: Perfil de Concentración de Cromo en mg L⁻¹ para muestras de agua intersticial de sedimentos en Estaciones Tornagaleones E1, E2, E3 y E4.

Concentración de Níquel en Sedimentos

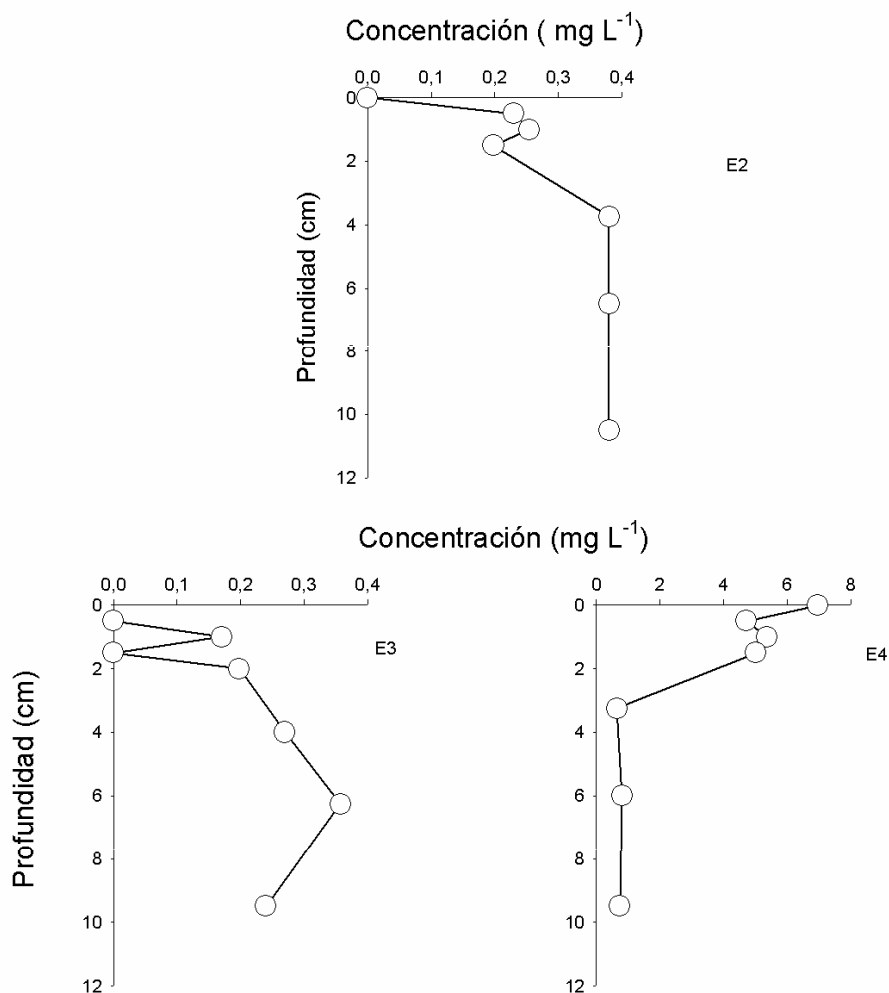


Figura 22: Perfil de Concentración de Níquel en mg L⁻¹ para muestras de agua intersticial de sedimentos en Estaciones Tornagaleones E1, E2, E3 y E4.

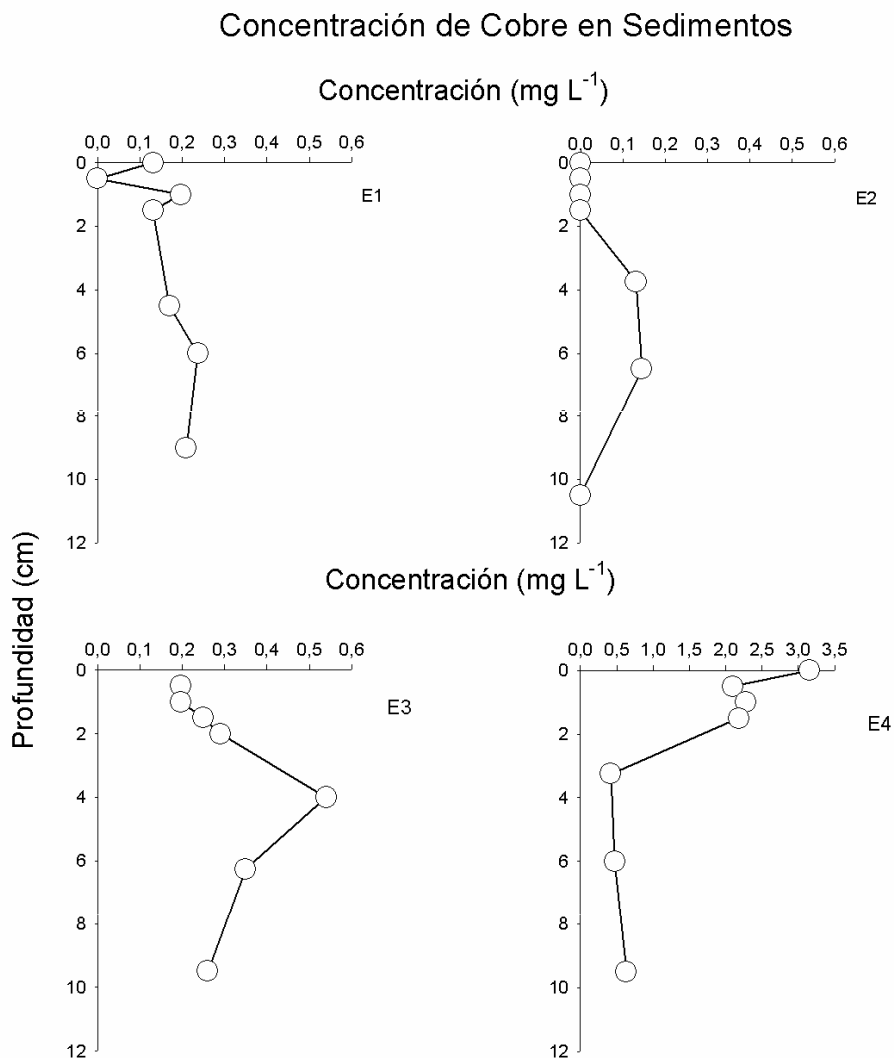


Figura 23: Perfil de Concentración de Cobre en mg L^{-1} para muestras de agua intersticial de sedimentos en Estaciones Tornagaleones E1, E2, E3 y E4.

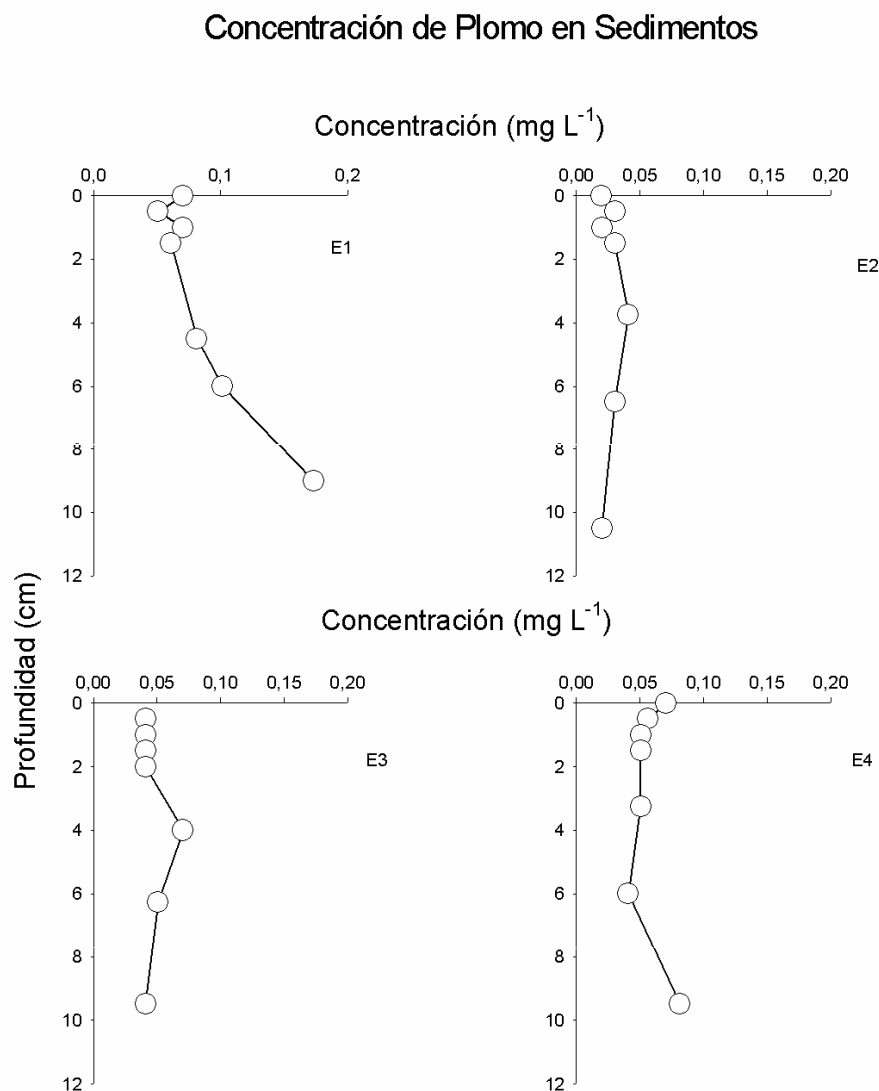


Figura 24: Perfil de Concentración de Plomo en mg L⁻¹ para muestras de agua intersticial de sedimentos en Estaciones Tornagaleones E1, E2, E3 y E4