



Universidad Austral de Chile

Facultad de Ciencias
Escuela de Química y Farmacia

PROFESOR PATROCINANTE: Dr. Eduardo Quiroz R.
INSTITUTO : Química
FACULTAD : Ciencias

**“DETERMINACIÓN DE TRAZAS DE CADMIO EN CHOLGA (*Aulacomya ater*),
CHORITO (*Mytilus chilensis*) Y OSTRA CHILENA (*Ostrae chilensis*) EN LA ZONA DE
CHILOÉ (HUEIHUE)”.**

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

YESENIA ANDREA OLAVARRÍA CONTRERAS

VALDIVIA-CHILE

2007

Dedico este logro a mis dos grandes tesoros, mis hijas, Camila y Alexandra por darme la energía suficiente para luchar día a día, a mi marido Alejandro, por su apoyo incondicional, a mis padres Edith y Arturo por enseñarme que no hay límites, que lo que me propongo lo puedo lograr y que sólo depende de mí. Y a mis hermanos Víctor, Arturo y Christopher por estar siempre junto a mí para escucharme.

AGRADECIMIENTOS

Primero y antes que nada, quisiera dar gracias a Dios, por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por permitirme llegar hasta este momento tan importante de mi vida.

Quisiera agradecer al Laboratorio de Elementos Traza y Nutrientes del Instituto de Química de la Universidad Austral de Chile, por el financiamiento otorgado a este proyecto.

Al profesor patrocinante, Doctor Eduardo Quiroz por asesorarme a lo largo de la tesis y acompañarme en este camino que hoy culmina en el presente proyecto, por compartir su conocimiento e inspirar en mí, mucha admiración.

Además quisiera agradecer al profesor Bernardo Jara por aportar en mí tesis con sus constantes enseñanzas y consejos que me permitieron conocer una gran persona. Del mismo modo quisiera agradecer a mis profesores informantes, Hernán Palma por su disposición ha asesorarme y por su buena onda, y a la Doctora Susan Hess por formar parte de mi comisión y de aquellas personas que en algún momento de mi largo camino como estudiante, me dedicó unas palabras de aliento.

Gracias a mis padres Arturo y Edith por la dedicación, paciencia, confianza y sobre todo por el amor que siempre me han entregado, los quiero mucho.

Agradezco a mis hermanos Arturo y Víctor por sus comentarios, sugerencias y opiniones (muchas veces sin que se las pida), por ser la mejor compañía para compartir el mismo techo y principalmente por estar ahí cuando los he necesitado. Y a mi hermanito Christopher por llenarnos de dicha y felicidad tan solo con su existencia.

Quisiera agradecer a mi marido Alejandro por ser parte de mi vida, por el amor, comprensión, paciencia y principalmente por haberme apoyado incondicionalmente en este desafío que emprendí y que se extendió por priorizar nuestro proyecto familiar.

Ahora quisiera detenerme para agradecer a los seres que más amo en esta vida, por quienes luché por conseguir el objetivo de ser una profesional y por quienes seguiré luchando, mis hijas Camila y Alexandra, ellas participaron junto a mí durante todo este agotador proceso. Partimos juntas y ahora ellas ya grandes, entienden mejor que nadie, lo que significa para mí haber llegado a la meta con ellas siempre a mi lado, porque solo así puedo decir: *“realmente valió la pena el esfuerzo de tantos años”*.

Y finalmente quisiera agradecer a mis amigas Cecilia C., Verónica G., Vania U., Yesenia O., Silvia V., Verónica A. y Valeska A. quienes formaron parte de este gran desafío, y con quienes compartimos tantas aventuras, experiencias, desveladas y triunfos, les agradezco por permitirme conocerlas y ser parte de su vida.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Pág.
1. RESUMEN.....	1
SUMARY.....	2
2. INTRODUCCIÓN.....	3
2.1 Contaminación ambiental.....	3
2.2 Contaminación marítima.....	3
2.3 Metales pesados.....	4
2.4 Origen de metales pesados.....	5
2.5 Indicadores de contaminación.....	6
2.6 Método de análisis de los metales.....	9
2.7 Metales a analizar.....	10
2.8 Objetivos.....	19
2.8.1 Objetivo general.....	20
2.8.2 Objetivo específico.....	20
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
3.1 Área de estudio.....	21
3.2 Muestreo.....	21
3.3 Tratamiento de las muestras.....	22
3.3.1 Medición, pesaje, desconchado y homogeneizado.....	22
de las muestras.	
3.3.2 Digestión de las muestras estacionales (grandes y medianas) y no estacionales.	23
3.3.3 Digestión de las muestras estacionales (pequeñas).....	24

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
4.1 Bioacumulación de cadmio.....	26
4.1.1 Relación entre la concentración de cadmio y el tamaño..... de las especies, en las estaciones del año.	26
4.1.2 Relación entre cadmio, peso y la permanencia de los..... bivalvos en el agua.	32
4.2 Resultados comparativos de cadmio con otros metales.....	35
4.2.1 Concentración de cadmio en bivalvos comparado con..... otros metales.	35
4.2.1.1 Muestreo de verano.....	35
4.2.1.2 Muestreo de otoño.....	39
4.2.1.3 Muestreo de invierno.....	41
4.2.1.4 Muestreo de primavera.....	43
4.3 Resultados de cadmio comparado con otros metales..... en distintos períodos de maduración.	46
4.3.1 Resultados de cadmio y otros metales, relacionando..... el peso, con la permanencia de los bivalvos en el agua.	46
4.3.1.1 Concentración de cadmio y otros metales en la..... especie de <i>Ostrea chilensis</i> en período de dos años y seis meses de permanencia en el agua.	46
4.3.1.2 Concentración de cadmio, y otros metales en la..... especie de <i>Mytilus chilensis</i> en período de un año y tres meses de permanencia en el agua.	48
4.3.1.3 Concentración de cadmio, y otros metales en la..... especie de <i>Aulacomya ater</i> en período de un año y tres meses de permanencia en el agua.	49
5. CONCLUSIONES	52
6. BIBLIOGRAFÍA	54

ANEXO N° 1: Figuras

Figura 1	Ubicación geográfico del lugar muestreado dentro del país.....	71
Figura 2	Ubicación de la zona de muestreo, Hueihue.....	72
Figura 3	Fotografía del lugar de extracción.....	73

ANEXO N° 2: Metodología de las muestras estacionales

2.1	Procedimiento analítico de digestión en Horno Microonda.....	76
2.1.1	Programa utilizado para el lavado de los vasos del Horno Microonda.....	77
2.1.2	Análisis a la llama.....	77
2.1.3	Análisis de Arsénico utilizando la técnica de Generación de Hidruros.....	79
2.1.3.1	Preparación del estándar de arsénico (As) de 1 ppm.....	79
2.1.3.2	Solución de yoduro de potasio al 20%.....	79
2.1.3.3	Solución de borhidruro de sodio al 3%.....	79
2.1.3.4	Solución de ácido clorhídrico 1.5%.....	79
2.1.3.5	Análisis con generador de hidruros para la determinación de As.....	80

ANEXO N° 3: Metodología de tratamiento de las muestras pequeñas en Horno de Grafito (HG)

3.1	Análisis en HG para muestras chicas, para determinar Cu, Ni, Pb, y Cd.....	82
3.1.1	Reactivos.....	82
3.1.2	Preparación de los estándares.....	82
3.2	Preparación de soluciones para el análisis por HG.....	83
3.2.1	Buffer citrato.....	83

3.2.2 Preparación de modificadores de matriz para mediciones de.....	83
cadmio y plomo en HG.	

ANEXO N° 4: Tablas

4.1 Tablas de referencia.....	85
4.1.1 Tabla de concentraciones límites aceptadas por diferentes agencias.....	85
4.1.2 Tabla de concentraciones de referencia para metales de.....	85
Environmental Protection Agency.	
4.1.3 Tabla de concentraciones de metales trazas reportados por varios.....	86
autores chilenos.	
4.2 Tabla de concentración de cadmio.....	86
4.2.1 Tabla de concentración de cadmio por tamaño.....	86
4.2.2 Tabla de concentración de cadmio por estación.....	87
del año.	
4.2.3 Tabla de bioacumulación de cadmio en diferentes períodos.....	87
de madurez.	
4.3 Tabla comparativa de cadmio con otros metales.....	88
4.3.1 Tabla comparativa promedio de verano.....	88
4.3.2 Tabla comparativa promedio de otoño.....	98
4.3.3 Tabla comparativa promedio de invierno.....	89
4.3.4 Tabla comparativa promedio de primavera.....	89
4.4 Tabla de bioacumulación de los metales en distintos períodos.....	90
de maduración.	
4.4.1 Tabla comparativa de bioacumulación de los metales.....	90
En distintos períodos de maduración.	

ANEXO N° 5: gráficos

5.1 Gráfico de concentración de cadmio.....	92
5.1.1 Gráfico de concentración de cadmio en bivalvos por tamaño.....	92
5.1.2 Gráfico de concentración de cadmio en bivalvos por estación..... del año.	93
5.1.3 Gráfico de bioacumulación de cadmio en distintos períodos..... de maduración de los bivalvos.	94
5.2 Gráfico comparativo de cadmio con otros metales.....	97
5.2.1 Gráfico comparativo de cadmio con otros metales..... en verano.	97
5.2.2 Gráfico comparativo de cadmio con otros metales..... en otoño.	98
5.2.3 Gráfico comparativo de cadmio con otros metales..... en invierno.	99
5.2.4 Gráfico comparativo de cadmio con otros metales..... en primavera.	100
5.2.5 Gráfico de bioacumulación de metales..... en distintos períodos de maduración de los bivalvos.	101

ANEXO N°6: fotografía de los instrumentos utilizado s

Figura 1 Equipo de Espectrofotometría de Absorción Atómica.....	105
Figura 2 Horno Microondas.....	105
Figura 3 Equipo de purificación de agua.....	106
Figura 4 Generador de Hidruros.....	106
Figura 5 Homogenizador.....	107

1. RESUMEN

La falta de estudios relacionados a la bioacumulación de metales por bivalvos en la zona de Chiloé, impide evaluar el impacto ambiental en el ecosistema acuático.

El presente trabajo de tesis tiene como objetivo, cuantificar la presencia principalmente de cadmio y de otros metales pesados, utilizando para ello tres especies de bivalvos: Cholga (*Aulacomya ater*), Chorito (*Mytilus chilensis*) y Ostra chilena (*Ostrea chilensis*) provenientes de la zona de Chiloé, (Hueihue).

Los muestreos fueron realizados durante todas las estaciones del año 2006, además, hubo un muestreo en marzo del 2007, destinado a evaluar la relación entre el peso de los bivalvo y el período de exposición en el agua.

La especie que bioacumula más cadmio es la *Ostrea chilensis*, estas presentaron valores entre 5,0 – 5.9 mug/g de concentración del metal. Los altos niveles de cadmio se mantuvieron en todas las tallas analizadas y en todos los muestreos realizados. Por otro lado, *Mytilus chilensis* es la especie que bioacumuló menos cadmio, con un rango entre 0.31 – 1.1 mug/g.

La secuencia de bioacumulación de los ocho metales en los muestreos de otoño y primavera, fue comparada a la encontrada por Quiroz., *et al* 1997 y Paredes, 1998, en la especie *Mytilus chilensis*, la cual entregó la siguiente secuencia de acumulación: Cu > Cd > Ni > Pb. En tanto que el muestreo de invierno presentó una secuencia similar a lo expuesto por Ahumada, (1992) en las especies de *Tagelus dombeii* y *Ch. chorus*, proporcionando la siguiente secuencia de acumulación de metales Zn > Cu > Ni > Cd > Pb > Hg > Cr.

SUMMARY

The lack of research or studies related to the metal bioaccumulation in bivalve, in the zone of Chiloé does not permit to evaluate the environmental impact in the aquatic ecosystem, generating a growing rate of anthropogenic alteration.

The present thesis intends to quantify the presence of heavy metals in bivalve, mainly cadmium and other, heavy metals by using three bivalve species: two species of mussel (*Aulacomya ater* and *Mytilus chilensis*); and the Oyster (*Ostrea chilensis*), coming from Hueihue, in the zone of Chiloé.

The samples were collected all seasons in 2006; there was an additional sampling in March, 2007 aimed to evaluate the relationship that could exist between the bivalve weight and the period of exposure in the water.

The species which bio accumulates most cadmium is the *Ostrea chilensis*, its levels are between 5.0 – 5.9 mug/g, it is presented in all the analyzed sizes, and during all the seasons of the year; on the other hand, the species which bio accumulates less cadmium is the *Mytilus chilensis*, being its levels between 0.31 – 1.1 mug/g, both in different sizes and different seasons of the year.

The sequence of bioaccumulation in the eight metals, in the seasons of autumn and spring, it is influenced by the exposed by Quiroz., *et al* 1997 and Paredes, 1998, in *Mytilus chilensis*, which shows a sequence of accumulation of Cu > Cd > Ni > Pb. While the exposed by Ahumada, (1992), in *Tagelus dombeii* y *Ch. chorus* with the following sequence of accumulation in metals Zn > Cu > Ni > Cd > Pb > Hg > Cr is the tendency of the sequence found in winter.

2. INTRODUCCIÓN

2.1 Contaminación Ambiental.

Las actividades humanas y el gran desarrollo de los procesos de industrialización aunque pensadas para ser benéficas, traen como consecuencia la liberación de desechos que se incorporan al ecosistema y afectan los distintos ambientes de una manera adversa, llevando a la producción y liberación de contaminantes (Shugart, 1994). El impacto sobre el medio ambiente está relacionado con el crecimiento de la población mundial, producto de la incorporación de contaminantes a la atmósfera, agua y suelo, los cuales se van acumulando hasta alcanzar concentraciones que consecuentemente limitan el uso y explotación de recursos (White y Raibow, 1987). Muchos de estos contaminantes no son biodegradables y por lo tanto su permanencia en el ambiente plantea una amenaza a largo plazo para la salud pública y la vida silvestre, donde los cambios biológicos debido a la contaminación ocurren en todos los niveles de organización, desde molecular hasta niveles de comunidad (Shugart, 1994; André, 1994).

2.2 Contaminación marítima

La contaminación del mar comienza con la revolución industrial, producto del rápido incremento de la población mundial, lo que condujo a una urbanización muy localizada, creando problemas tanto en la calidad como en la cantidad de agua (Dekov *et al.*, 1998; Förstner *et al.*, 1990; Vink *et al.*, 1999).

Según la definición dada por el grupo GESAMP (Groups of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protections) y adoptada por la comunidad

internacional, en la convención de las Naciones Unidas sobre el derecho del mar (art. 1,4), se entiende por contaminación marina:

“la introducción por el hombre, directa o indirectamente, de sustancias o energía a este ambiente (incluidas los estuarios), la que puede causar efectos perjudiciales tales como daño a los recursos vivos, peligros para la salud humana, obstáculos para las actividades marinas (incluida la pesca), el deterioro de la calidad del agua de mar y la reducción de los atractivos naturales” (FAO/SIDA, 1983; Alarcón, 2003).

2.3 Metales pesados

Los estudios sobre contaminación marina son de gran importancia en ambientes estuarinos y costeros, donde la descarga tanto de residuos industriales como domésticos son altos. Unos de los procesos de contaminación marina de mayor preocupación es la de carácter químico derivado del proceso de desarrollo, industrialización o urbanización, debido a que se vierten a los cuerpos de agua desechos industriales cuya fabricación, proceso, distribución, uso y liberación representa un riesgo inaceptable para la salud humana y el medio ambiente (Chiang, 1988; Waldichuk, 1974; Ahumada, 1994).

Los contaminantes marinos potencialmente más tóxicos son los denominados metales pesados; estos se definen arbitrariamente como aquellos metales cuya densidad es por lo menos cinco veces mayor que la del agua, tanto los elementos de transición como algunos elementos de los grupos III, IV, V y VI de la tabla periódica son comúnmente conocidos como **metales pesados**, aunque dentro de ellos se encuentra elementos como **As**, el cual es un metaloide.

Dichos metales se encuentran en forma natural en la corteza terrestre en diferentes concentraciones (Pnuma, 1980). Estos elementos también son llamados “metales trazas” porque presentan bajas concentraciones en organismos, del orden de 1ppm o menos, aunque dicho término puede simplemente implicar la presencia de un requerimiento esencial de un determinado metal en un organismo (Nelson, 1996; Rozas, 2001).

2.4 Origen de los metales pesados

El aporte de estos, al ciclo hidrológico proviene de dos fuentes, una de origen **litogénico o geoquímico**, donde minerales por causa de erosión, lluvia, u otra, son arrastrados al agua y un segundo aporte es de origen **antropogénico**, que es debido a la actividad humana.

De las diferentes sustancias existentes, más de un millón han sido introducidas en las aguas naturales a través de vertidos antropogénicos (Förstner *et al.*, 1993).

El peligro radica en la característica que presentan estos contaminantes debido a su alta persistencia, rápida acumulación en suelos, sedimentos, flora y fauna, donde los efectos son difícilmente detectables a corto plazo (Waldichuk, 1974; Ahumada, 1994). Los metales pesados forman parte de los elementos constituyentes del agua de mar, generados por los procesos, que durante el ciclo biogeoquímico natural se interrelacionan con el ambiente a través de los desechos y material sedimentario proveniente de la actividades industriales (Gutiérrez *et al.*, 1999). Según Garrels *et al.*, (1975), en muchos casos esta movilización antropogénica excede a la movilización natural, lo cual provoca a menudo la transformación de las aguas de ríos, lagos y costas

en depósitos de residuos, en los que el equilibrio natural está severamente perturbado y en muchos casos totalmente aniquilado (Förstner y Wittman, 1981; Murray, 1996).

Según Ahumada, (1994) los sedimentos marinos y estuariales son una matriz ambiental, que por su origen, integra en el tiempo los cambios geoquímicos que ocurren en la columna de agua, de tal forma que estudios de mediano y largo plazo pueden aportar interesantes antecedentes en la historia de alteración de un área (Nelson, 1996).

2.5 Indicadores de contaminación

Las concentraciones de metales pesados en sedimentos generalmente son más altas que las encontradas en el agua, razón por la cual son ampliamente utilizados como indicadores de contaminación que ha sufrido el ecosistema marino. Por lo tanto, los sedimentos de un ecosistema acuático reflejan la calidad de sus aguas.

Los metales pesados que son inmovilizados en los sedimentos constituyen un riesgo potencial en la calidad del agua y la biota debido a que pueden ser liberados de nuevo a la fase acuosa (Soto, 2001; Azevedo *et al.*, 1988).

La ingesta de metales pesados por los organismos acuáticos depende del hábitat y hábitos alimenticios. Las especies filtradoras y organismos planctónicos están más expuestos a los metales pesados disueltos en agua o asociados a partículas. Por otra parte, los sedimentívoros y la miofauna, captan los metales al ingerir partículas sedimentarias y las aguas asociadas a los poros del sedimento, así como los metales presentes en las bacterias que viven asociadas al sedimento (Salomons *et al.*, 1988).

Debido al potencial de algunos organismos marinos, especialmente algas e invertebrados para concentrar metales trazas, se habría sugerido el uso de estos

como organismo de vigilancia o monitoreo en ambiente estuarianos y costeros, ello básicamente porque permite integrar espacial y temporalmente las variaciones ambientales de estos metales (Loaban *et al.*, 1985; White y Rainbow, 1987; Sharp *et al.*, 1988; Díaz, 1993). Es así que desde la década de los ochenta, se ha extendido el uso de biomarcadores en programas de monitorización de la contaminación ambiental.

Entre los organismo biomonitores se han usado diferentes especies de peces y moluscos bivalvos, estableciendo que estos últimos son entre los organismos marinos, el grupo más recomendado para su uso como organismo monitores de contaminación acuática (Blasco *et al.*, 2003; Hight y Corcoran, 1987). Estos organismos juegan un rol esencial en los estudios relacionados con la evaluación de la calidad del ambiente marino (The Royal Society, 1979; Riisgard *et al.*, 1985 y Phillips, 1990). Estableciéndose que la toxicidad está directamente relacionada con la concentración del compuesto y con la edad de los organismos (Minganti *et al.*, 1990). Debido a esto, los bivalvos han sido ampliamente utilizados para evaluar la calidad ambiental *in situ* de los ecosistemas acuáticos, ya que poseen las siguientes y adecuadas características: son organismos sedentarios, muestran una alta capacidad de bioacumulación por su carácter senil y filtradores, son abundantes, de vida media larga, manejable y fácilmente aclimatable a las condiciones experimentales.

Diferentes especies de moluscos bivalvos (*Crassostrea angulata*, *Scrobicularia plana*, *Venerupis sp*) han sido usados como biomonitores de la contaminación acuática (Blasco *et al.*, 1993, 2003; Díaz- Méndez *et al.*, 1998; López-Barea y Pueyo, 1998; DelValls *et al.*, 1999; Cajaraville *et al.*, 2000).

El estudio en los bivalvos ha permitido evaluar los posibles riesgos para la salud, derivados del consumo de estos productos, ya que la exposición muy alta de metales pesados puede llevar a muerte de los individuos, así como, la exposición a concentraciones muy bajas por períodos prolongados, produce el mismo efecto letal. Daños sub-letales, en vertebrados e invertebrados, varían desde afectar el crecimiento, morfología, comportamiento, reproducción y reclutamiento, característica de la sangre y circulación, hasta causar deterioro del sistema renal, hepático o neuronal, depresión o aceleración de la actividad de enzimas y hormonas, efectos carcinogénicos y mutagénicos y diversas enfermedades.

Todos los metales, incluyendo los micronutrientes esenciales, son virtualmente tóxicos para los organismos acuáticos y para los seres humanos si los niveles de exposición son suficientemente altos, en este sentido hay que hacer una clara diferenciación entre los elementos que poseen funciones esenciales para la vida, como es el caso del cobre y el zinc, frente a aquéllos cuya ingestión a bajas dosis desencadena ya efectos tóxicos, como el plomo y el cadmio (Laws, 1981; Copa-Rodríguez *et al.*, 1994; Voegborlo *et al.*, 1999). En el primer caso, estos elementos desarrollan acciones fisiológicas de primer orden, como por ejemplo la estabilización de membranas y fundamentalmente la regulación de la actividad de numerosas enzimas. Los problemas con estos elementos inorgánicos surgirán cuando los niveles corporales se presenten por encima o por debajo de las concentraciones fisiológicas requeridas por el organismo (Chang, 1996; Mas y Azcúe, 1993). Los metales pesados más peligrosos tanto para el ecosistema marino como para la salud humana debido a sus características de toxicidad, persistencia y bioacumulación son por este orden: Hg, Cd,

y Pb, seguidos a bastantes distancias por el Cu, Zn, Cr, Ni, etc (Kennish, 1991). La consecuencia más grave de que los metales no sean biodegradables es su acumulación en las cadenas tróficas, por lo que los organismos tróficamente superiores, entre ellos el hombre, se encuentren expuestos a elevadas concentraciones de estos elementos (Wang, 2002; Neff, 2002).

La bioacumulación consiste en la capacidad de los organismos de acumular selectivamente contaminantes en sus tejidos, respecto de las concentraciones existentes en el medio en que habitan (The Royal Society, 1979; Riisgard *et al.*, 1985; Internatinal programme on Chemical Safey (IPCS), 1998). La acumulación de metales pesados por organismos marinos es un proceso complejo donde intervienen una serie de mecanismos internos y externos que juegan un papel determinante, tales como: la talla de los organismos (Cossa *et al.*, 1979), la composición bioquímica y factores genéticos (Frazier *et al.*, 1985), los ciclos de desove que afectan la condición y el peso (Lobel y Wright, 1982), la biodisponibilidad del metal, la temperatura y la salinidad (Phillips, 1976).

Según Quiroz *et al.*, y Paredes, 1998, resulta difícil establecer la concentración de metales que podría considerarse normal, o establecer que concentración de elementos traza está dentro de los requerimientos de los organismos. Se ha considerado que la costa Chilena presentaría, concentraciones relativamente más altas de algunos metales (Quiroz *et al.*, 2002 y Quilodrán, 2002).

2.6 Método de análisis de los metales

La Espectrofotometría de Absorción Atómica es una técnica analítica que se usa extensivamente para la determinación de metales totales en la matriz de sedimentos y

organismos. Su sensibilidad alcanza $\mu\text{g/g}$, suficientes para el análisis de la mayor parte de los metales trazas, aunque algunos se encuentran bajo el límite de detección. La determinación química de metales trazas en sedimento es compleja, por su composición diversa y la baja concentración de los metales. No obstante, la especificidad de las lámparas hace confiable la metodología de la Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA).

Sin embargo, la preconcentración, utilización de muestras distintas del mismo lugar o manipulación de la muestra, incrementan el error en los resultados. Por lo cual adaptaciones metodológicas recientes de la EAA, validadas en el laboratorio de la Universidad Austral, han permitido incrementar la sensibilidad.

2.7 Metales a analizar

CADMIO

Canli y Furness, 1993; Miles y Hills, 1994 indica, que no se presenta una tendencia basada en la posición taxonómica. Sin embargo, en algún estudio se señala que la concentración de este metal aumenta al incrementar el nivel trófico (Riget y Dietz, 2000).

El Cadmio (Cd) es un metal relativamente raro, usualmente está presente en pequeñas cantidades en minerales de zinc y es comercialmente obtenido como un subproducto industrial de la producción de zinc, cobre y plomo. Los mayores usos de cadmio son en acero galvanizado, en producción de pigmentos y en la manufactura de estabilizadores de plástico y baterías. El origen antropogénico de cadmio incluye fundiciones, los productos de incineración de materiales que contienen cadmio,

combustibles fósiles, fertilizantes, aguas servidas municipales y descarga de lodo (Eisler, 2000).

No existe evidencia de que sea biológicamente esencial o benéfico. Se le atribuyen efectos carcinogénicos, mutagénicos y teratogénicos. En concentraciones suficientes es tóxico para toda forma de vida, incluyendo microorganismos, plantas aéreas, animales y el hombre. En su forma catiónica normal, como Cd^{2+} , este elemento presenta fuertes analogías químicas con dos elementos esenciales, el Zn^{2+} y el Ca^{2+} , y de alguna manera, estas analogías dan cuenta de sus principales efectos tóxicos. Por un lado, puede desplazar al zinc de algunos de sus sitios activos y por el otro, compite con el calcio en ciertos sistemas biológicos, y también puede ser incorporado al hueso, ocupando los sitios de calcio en las apatitas biológicas (Baran, 1995). También explica por qué éste último es acumulado de forma activa por las plantas, ya que el zinc es un nutriente esencial para ellas (Spiro, 2004).

Los efectos letales de cadmio son directamente causado por los iones libres de este, los que pueden inactivar varias enzimas dependientes de metales; sin embargo el cadmio no enlazado a metalotioneína, que es una importante proteína de transporte y almacenamiento de este metal, puede tener la capacidad para dañar directamente las membranas del túbulo renal durante la reabsorción (Eisler, 2000). Por lo tanto la unión de cadmio intracelular a la metalotioneína en los tejidos protege contra la toxicidad del metal. El cadmio ejerce su actividad tóxica en las plantas a nivel de su membrana celular, destruyendo su estructura lipídica e inhibiendo su crecimiento (Monni *et al.*, 2001).

En el ser humano, la exposición intensa por inhalación de vapores de óxido de cadmio produce neumonitis aguda con edema pulmonar, que puede ser letal. La ingestión de dosis elevadas de sales solubles de cadmio produce gastroenteritis aguda. La exposición ocupacional prolongada al cadmio ha producido efectos crónicos graves, principalmente en el pulmón y el riñón. También se han observado efectos renales crónicos en la población general. Entre otros efectos que se han detectado tras la exposición intensa de cadmio figuran: trastorno del metabolismo de calcio, la hipercalciuria, formación de cálculos renales, osteoporosis y/o osteomalacia.

PLOMO

La toxicidad del Plomo se debe sobre todo a su forma química, siendo en general las formas inorgánicas menos tóxicas que las orgánicas (Kennish, 1997). No se han encontrado indicaciones de que el Pb se incremente en los niveles tróficos superiores (Fant *al et.*, 2001).

El Plomo y sus compuestos han sido conocidos por el hombre por más de 7000 años, y lo peligroso del Pb ha sido reconocido hace menos de 2500 años; siendo uno de los metales más tóxicos y estudiados por la Química Ambiental y todas las evidencias indican que no es un elemento esencial o beneficiosos para los organismos vivos y todos los efectos medidos son adversos, incluyendo aquellos de sobre vivencia, crecimiento y de metabolismos. Este es mutagénico y teratogénico cuando se absorbe en grandes cantidades y podría llegar a ser carcinogénico (Seki y Hiramó, 2002; Quilodrán, 2002; Eisler, 2000).

Los compuestos orgánicos de Pb son generalmente de origen antropogénico y se encuentran frecuentemente en el medio acuático como contaminantes. Sin embargo,

algunos complejos orgánicos se forman naturalmente, y sus velocidades de formación pueden ser afectadas por plomo contenido en artefactos creados por el hombre. La concentración de Pb ha aumentado, debido a su uso en antidetonantes, en gasolinas para vehículos, los cuales producen plomo como producto de su combustión y el uso en pinturas. Además, está en altas concentraciones en ecosistemas cercanos a minas de Pb, fundiciones y actividades de refinera; plantas de almacenaje de baterías de Pb recicladas y áreas urbanas e industrializadas (Horne, 1969; Frew y Hunter, 1995).

El Plomo industrial que llega al medio marino, es estimado en 10 veces más que el introducido por procesos naturales, como lluvia, aguas cloacales y aerosoles.

El plomo trastorna fundamentalmente los procesos bioquímicos de prácticamente todas las células y los sistemas del organismo. Se une a las proteínas, particularmente a aquellas de los grupos del sulfidrilo, de tal manera que puede alterar su estructura y su función, o bien competir con otros metales en los sitios de enlace. Puesto que el plomo es químicamente similar al calcio, por lo que interfiere con diversos procesos dependientes de éste (Matte, 2003).

Se han observados deficiencias psicológicas y neurocomportamentales en trabajadores que habrían estado expuestos al plomo durante un tiempo prolongado. Por razones neurológicas, metabólicas y comportamentales, los niños son más vulnerables a los efectos del plomo que los adultos (IPCS, 1998).

ARSENICO

Los organismos marinos contiene altos niveles de As siendo las formas orgánicas inocuas para el consumo humano, más abundantes en los crustáceos y mariscos, que en peces (Vélez y Montora, 1998; Muñoz *et al.*, 2000). Algunos

investigadores han encontrado correlación positiva entre el contenido de As total y la talla de diferentes especies (Phillips, 1990). El Arsénico (As) es un elemento que se encuentra comúnmente en aire, agua, suelo y es usado extensamente en medicina, agricultura e industrias. En aguas naturales es considerado importante mantenerlo en concentraciones bajas, porque puede producir un significativo daño para la salud. Es un elemento teratogénico y carcinogénico que atraviesa la barrera placentaria y produce muerte fetal y malformaciones en varias especies de mamíferos. La mayor parte del As producido domésticamente proviene de la manufactura de productos agrícolas tales como insecticidas, herbicidas, funguicidas, algicidas, agentes preservantes y estimulantes del crecimiento de plantas y animales. Y de otros orígenes antropogénicos, tales como emisiones atmosféricas de refinerías, plantas de poder y spray atmosféricos que contienen As.

Su biodisponibilidad y propiedades tóxicas son modificadas significativamente por numerosos factores biológicos y abióticos, incluyendo la forma física y química del arsénico, la ruta de administración, la dosis, y la especie de animal. El mecanismo de toxicidad del Arsénico difiere bastante entre las diversas especies, sin embargo todas causan signos similares de envenenamiento (Eisler, 2000).

COBRE

Peces, crustáceos y mariscos regulan bien el Cu en sus tejidos; sin embargo, en ocasiones se ha encontrado una relación inversa entre los valores de Cu y el tamaño, lo que puede sugerir que las necesidades metabólicas disminuyen con la edad (Swaileh y Adelun, 1994). El cobre es un elemento esencial que es eficientemente regulado a bajas concentraciones, pero es rápidamente tóxico para organismos acuáticos, cuando

aumenta la concentración en el ambiente. La toxicidad acuática debida al cobre está bien estudiada, y hay evidencia experimental de que un considerable número de especies son sensibles a concentraciones disueltas tan bajas como 1 – 10 $\mu\text{g/g}$ (Bryan y Langston, 1992).

Este elemento es abundante en el medio ambiente y es esencial para el crecimiento normal y el metabolismo de todos los organismos vivos. Las descargas de cobre en la biosfera global son debidas principalmente a actividades humanas, especialmente minería, producción, refinera y el tratamiento y reciclado de productos industriales y desperdicios. Algunos compuestos, especialmente sulfato de cobre, también contribuyen al aumento de este elemento en el medio ambiente, debido a que es usado intensamente en áreas geográficas determinadas, para el control de especies de mosquitos de plantas acuáticas e invertebrados, enfermedades de plantas terrestres y ectoparásitos de peces y animales de consumo humano (Plassche, 1997; Quilodrán, 2002; Eisler, 2000; Alarcón, 2003).

ZINC

En algunas especies parece existir una relación entre los valores de Zn y el tamaño del animal, lo que puede significar requerimientos metabólicos diferentes entre individuos jóvenes y adultos (Kennish, 1997).

La ingesta farmacológica de zinc se ha asociado con efectos que van desde la leucopenia y/o la anemia microcítica hipocrómica hasta la disminución de la concentración de lipoproteínas de alta densidad en el suero. Estas condiciones fueron reversibles al interrumpir la terapia de zinc y administrar un suplemento de cobre (Eisler, 2000).

NIQUEL

El Níquel (Ni) se encuentra en el aire, suelo, agua, alimentos y utensilios domésticos, es un micronutriente esencial para mantener la salud en ciertas especies, de plantas y animales. La ingesta o inhalación de níquel es común, al igual que la exposición dérmica. La contaminación por Ni a partir de actividades antropogénicas ocurre localmente por emisiones de minas, procesos y operaciones de refinería, quema de combustibles fósiles, niquelado de metales y manufactura de aleaciones (Quilodrán, 2002). Algunas formas de Ni son carcinogénicas para humanos y animales, pero solo cuando la exposición es por la vía respiratoria (Eisler, 2000).

Los efectos tóxicos de níquel para humanos y animales de laboratorio producen daño en diversos sistemas como el respiratorio, cardiovascular, gastrointestinal, hematológico, músculo esquelético, hepático, renal, dérmico, ocular, inmunológico, neurológico y sistema reproductivo. La toxicidad de níquel en mamíferos está gobernada por la forma química del níquel, dosis y ruta de exposición.

Los efectos tóxicos y carcinogénicos de los compuestos del níquel están asociado con un daño en el DNA, proteínas y la inhibición de defensas celulares antioxidantes (Eisler, 2000).

HIERRO

El Hierro (Fe) es de todos los elementos trazas esenciales para la vida el que se requiere en una mayor cantidad (Spiro, 2004). Está presente en todas las células del organismo y juega un rol fundamental en muchas reacciones bioquímicas. Se encuentra en varias enzimas responsables del transporte de electrones (citocromos), de la

activación del oxígeno (oxidasas y oxigenasas) y del transporte de oxígeno (hemoglobina y mioglobina) (INTA, 1988).

Es soluble en su estado ferroso (Fe^{2+}) y se oxida en presencia de aire a la forma insoluble férrica (Fe^{3+}). Es un metal extraordinariamente común y se encuentra en grandes cantidades en suelos y rocas, aunque normalmente en forma insoluble. Sin embargo, debido a un número de complejas reacciones que se suceden de forma natural en el suelo, se pueden producir formas solubles de hierro que puede contaminar cualquier agua que lo atraviese (Gray, 1996).

Elevadas concentraciones de hierro pueden afectar negativamente el crecimiento y el sistema de raíces de varias especies de plantas de humedales, dependiendo de sus mecanismos de tolerancia (Snowden y Wheeler; 1993, 1995). También su exceso cataliza la formación de radicales de hidroxilos en los cloroplastos, los cuales son altamente fitotóxicos y responsables de la peroxidación de la membrana de lípidos y la degradación de proteínas en las plantas (Marschner, 1995), esto según Lucassen *et al.* (2000), haría que aparezcan en las plantas puntos necróticos de color café.

En dosis tóxicas en humanos, el hierro es absorbido casi completamente y logra entrar rápidamente en la circulación. Si la capacidad de la transferrina para transportar hierro es excedida, queda hierro libre que es el responsable del daño al unirse a los tejidos de los cuales el hígado es el más afectado, donde se evidencia una necrosis hemorrágica del hepatocito (Paris, 2000). Además su exceso permite catalizar la producción de radicales oxígeno y por otra parte, puede estimular el crecimiento bacteriano y agravar infecciones (Spiro, 2004).

MANGANESO

El manganeso es uno de los elementos más abundantes en la corteza de la tierra y en los suelos, las aguas y los seres vivos. La extracción de los minerales de manganeso, los procesos metalúrgicos y otras utilidades industriales del metal pueden causar contaminación por humos, polvo y aerosoles, principalmente de óxidos de manganeso. También puede haber cierta contaminación del medio ambiente debido a la utilización de compuestos de manganeso para fabricar linóleo, cerillas, material pirotécnico y pilas secas, la adición a los combustibles de aditivos de manganeso orgánico y la introducción del metal en fertilizantes y fungicidas (Pnuma, 1980).

El envenenamiento por manganeso, especialmente como resultado del taladrado de aleaciones a gran velocidad, que produce grandes cantidades de polvo de bióxido de manganeso constituyendo un posible peligro industrial. Se han registrado más de 400 casos de envenenamiento crónico por manganeso. La inhalación excesiva ha sido causa de neumonía entre los trabajadores, se ha informado que la inhalación y la ingestión de agua altamente contaminada, han dado lugar a trastornos cerebrales crónicos irreversibles similares a la enfermedad de Parkinson (Pnuma, 1980).

En Chile los estudios sobre acumulación de metales pesados en sedimento y organismos han sido más bien escasos y dispersos, en los primeros se analizó la distribución de magnesio en agua, sedimento y organismos del Estuario Lengua (Concepción, Chile). También se han realizado estudios en la bahía de San Vicente, (Concepción, Chile) donde se encontró un alto volumen de desechos industriales y de actividad portuaria (Villalobos, 1997). En la X Región se han realizado algunos estudios de acumulación de metales pesados. Entre ellos destaca Quiroz et al., 1997 y Paredes,

(1998), quien determinó los niveles de mercurio en tres especies de moluscos de *Mytilus*, en la Bahía de Corral.

Mediante análisis realizado en bivalvos en el laboratorio de la Universidad Austral de Chile, se ha evidenciado que muestras procedentes de la décima región, específicamente de la Isla de Chiloé, presentan gran acumulación de metales pesados principalmente de cadmio. La falta de estudios relacionados a la bioacumulación de metales por bivalvos en esta zona, impide evaluar el impacto ambiental en el ecosistema acuático, generado por una taza creciente de alteraciones antropogénicas, y los efectos que podría producir posteriormente en la población.

Estos antecedentes llevan a plantear la siguiente hipótesis: “Los niveles de Cadmio presente en moluscos (bivalvos) varían con la estación del año en la cual se extraen desde el mar y son proporcionales al grado de madurez y/o tamaño del organismo analizado”.

2.8 Objetivos.

El presente trabajo de tesis tienen como objetivo cuantificar la presencia de metales pesados, utilizando para ello organismos biomonitores (bivalvos), los cuales manifiestan un incremento de la acumulación de metales con el tiempo de exposición y con la concentración ambiental, permitiendo un seguimiento de la contaminación ambiental *in situ*.

2.8.1 Objetivo General.

El objetivo general de este trabajo es determinar el nivel de los metales pesados, principalmente cadmio en: Cholga (*Aulacomya ater*), Chorito (*Mytilus chilensis*) y Ostra chilena (*Ostrea chilensis*) en la zona de Chiloé (Hueihue).

2.8.2 Objetivos Específicos.

- Analizar por espectrofotometría de Absorción Atómica los niveles de cadmio bioacumulado en Cholga (*Aulacomya ater*), Chorito (*Mytilus chilensis*) y Ostra chilena (*Ostrea chilensis*).
- Analizar por horno grafito la cantidad de cadmio bioacumulado en Cholga (*Aulacomya ater*), Chorito (*Mytilus chilensis*) y Ostra chilena (*Ostrea chilensis*) de un período inmaduro de crecimiento.
- Identificar la estación del año en la que hay mayor cantidad de cadmio, relacionado a la bioacumulación de los bivalvos.
- Identificar el tamaño del bivalvo en el cual bioacumula más cadmio.
- Identificar posible relación entre el tamaño del bivalvo y el grado de bioacumulación de metales pesados.
- Determinar los niveles de Fe, Cu, Zn, Mn, Ni, As y Pb en las distintas muestras de bivalvos a estudiar.

3. MATERIAL Y MÉTODO

3.1 Área de estudio

El área de estudio se encuentra en la localidad de Hueihue, en la isla de Chiloé, décima región (Anexo N°1; figura N°1).

Los sistemas litorales semicerrados de la región austral por sus características dinámicas y la alta pluviosidad, poseen características estuarinas, es decir, una fuerte dilución de las aguas costeras por los aportes fluviales, corriente superficial y zonas de intercambio de agua de mar con zonas costeras adyacentes (Pickard, 1971).

3.2 Muestreo

Las muestras se realizaron de un solo punto (Latitud: 41°54'55S Longitud: 73°29'24 W) ubicada en la localidad de Hueihue, Chiloé.

Se obtuvieron tres especies de bivalvos; Cholga (*Aulacomya ater*), Chorito (*Mytilus chilensis*) y Ostra chilena (*Ostrea chilensis*).

Para el caso de las muestras estacionales, cada especie de tres tamaños diferentes (grandes, medianas y pequeñas), mientras que para las muestras no estacionales se recolectan especies de distintos tamaños, las que se separaron en función al período de permanencia en el agua (años o meses).

La extracción cronológica de las muestras fue la siguiente: la primera se llevo a cabo el 19 de marzo 2006 (verano); luego se obtuvo la segunda extracción, el 25 de mayo 2006 (otoño); la tercera extracción, fue el 17 de septiembre 2006 (invierno) y por último la cuarta extracción, el 17 de diciembre 2006 (primavera). Además se tomo una muestra el 30 de mayo 2007 correspondiente a las muestras no estacionales, para

evaluar el efecto que produce el tiempo de exposición en la bioacumulación de los bivalvos.

IMÁGENES DE BIVALVOS EN ESTUDIO



Ostrae chilensis



Mytilus chilensis



Aulacomya ater

3.3 tratamiento de las muestras

3.3.1 Medición, pesaje, desconchado y homogeneizado de las muestras.

Las muestras fueron colocadas en bolsas plásticas, llevadas al laboratorio, y congeladas a -4°C para su posterior análisis.

Los individuos fueron medidos con un pie de metro, se seleccionaron por tamaño de valva, analizaron cuatro muestras de cada tamaño (grande, medianas y pequeñas).

Para la selección de las tallas se utilizó la siguiente clasificación:

TALLAS (mm)	RANGOS EN LAS ESPECIES		
	OSTRAS	CHOLGAS	CHORITOS
GRANDE	60 - 80	50 - 70	41 - 55
MEDIANO	40 - 59	35 - 49	31 - 40
PEQUEÑOS	20 - 39	25 - 34	25 - 30

El análisis de las muestras de talla medianas y grandes y las no estacionales, fueron desarrolladas por duplicado, mientras que las muestras estacionales de talla pequeñas se realizó en triplicado.

Cada individuo fue separado de su concha con la ayuda de utensilios adecuados. Una vez separado y pesados cada uno fue colocado en una placa de Petri plástica para luego ser homogenizada en el homogenizador Ultra Turrax, modelo T 25, marca IKA (Anexo N°6; figura N°5).

Este tratamiento se llevó a cabo en todas las muestras recolectadas sin excepción.

3.3.2 digestión de las muestras estacionales (grandes y mediana) y no estacionales.

Luego se realizó la digestión y análisis de las muestras grandes y medianas, de las especies de Cholga (*Aulacomya ater*), Chorito (*Mytilus chilensis*) y Ostra chilena (*Ostrea chilensis*), del homogenizado obtenido anteriormente, se pesó en una balanza analítica 0,50 g de muestra, en duplicado, para la determinación de los siguientes metales: Cd, Cu, Zn, Ni, Fe, Cu, Mn y As, este tratamiento se realizó en todos los muestreos.

La digestión ácida comienza agregando 1 mL de perhidrol (H_2O_2) al 30% y 6 mL de ácido nítrico (HNO_3) concentrado con el fin de digerir la materia orgánica y liberar los metales de la muestra, para luego ser introducidas al horno microondas Millestone modelo Ethos 1600 (Anexo N°5; figura N°2), donde se produce la total digestión de las muestras. La solución resultante de la digestión es colocada en matraces aforados de 10 mL, donde el volumen restante es completado con agua desionizada (Anexo 5;

figura N° 3). Para posteriormente ser analizadas en el Espectrofotómetro de Absorción Atómica UNICAM, modelo M-5 en su modalidad de Llama (Anexo 5; figura N° 1).

Para la determinación de arsénico el tratamiento de las muestras fue el mismo, pero para su detección se utilizó la Técnica de Generación de Hidruros, el instrumento utilizado fue un Espectrofotómetro de Absorción Atómica, Perkin Elmer, modelo 3110 y un generador de hidruros Perkin Elmer MHS-10 (Anexo N°5, figura N°4).

3.3.3 Digestión de las muestras estacionales (pequeñas).

La digestión y análisis de las muestras pequeñas consistió en pesar dos muestras de alrededor de 0,05 g en triplicado en tubos Eppendorf, para la determinación de los siguientes metales: Pb, Cd Ni y Cu.

La cuantificación de Pb no fue posible porque las cantidades presentes eran menores que el límite de detección del equipo.

La digestión ácida comienza agregando 300 µL de solución ácida (4 HNO_3 + 1 H_2SO_4 concentrados) durante 30 minutos a 60° C en estufa, se enfría durante 10 minutos se abre cuidadosamente bajo campana para eliminar la sobrepresión de gases y posteriormente se vuelve a cerrar.

Segunda digestión por 60 minutos a 60° C, nuevamente se enfría durante 10 minutos y se abre cuidadosamente bajo campana para eliminar la sobrepresión de gases y posteriormente se vuelve a cerrar.

Tercera digestión se deja toda la noche a 60° C, se enfría durante 10 minutos y se abre cuidadosamente bajo campana para eliminar la sobrepresión de gases y posteriormente se vuelve a cerrar.

Digestión final a 80° C por 60 minutos, se enfría 15 minutos y luego se procede a su disolución.

A cada muestra se le agrega 700 µL de agua desionizada recién elaborada y luego se agita durante 15 minutos.

Dilución 1:10, es decir se toman 100 µL de la solución digerida y 900 µL de agua desionizada, se mezclan 15 minutos con agitación mecánica.

Si es necesario se vuelve a repetir la dilución anterior.

Posteriormente son analizadas en el Espectrofotometría de Absorción Atómica en su modalidad de Horno de Grafito (análisis electrotérmico), Perkin Elmer 3100 y horno modelo HGA-600 con autosampler AS-60.

Las muestras no estacionales (madurez) fueron tratadas de igual forma que las muestras grandes y medianas, en el estudio se evaluaron dos períodos de madurez por cada especie.

Para el caso de la *Ostrea chilensis*, se selecciono un numero representativo de muestras, todas de distinto tamaño y peso, las muestras que presentaban pesos similares se reagruparon, de las cuales se obtuvo un promedio, que correspondió, por ejemplo al periodo de 2 años de permanencia en el agua. El mismo procedimiento se llevo a cabo en todas las especies para cada uno de los periodos analizados.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La prioridad de este estudio fue obtener la concentración acumulada de cadmio en las diferentes especies chorito (*Mytilus chilensis*), cholga (*Aulacomya ater*) y ostra (*Ostrea chilensis*).

Para una mejor apreciación de los resultados, se trabajó adicionalmente con Plomo, Cobre, Níquel, Manganeso, Zinc, hierro y Arsénico como patrones comparativos. Los resultados obtenidos de este análisis fueron distribuidos en dos secciones; uno relacionado exclusivamente con la concentración acumulada de cadmio y otro comparando la acumulación de este último con los restantes metales. El resumen de las tablas se encuentra en el Anexo 4, y sus respectivos gráficos en el Anexo 5.

4.1 Bioacumulación de Cadmio.

4.1.1 Relación entre la concentración de cadmio y el tamaño de las especies, en las distintas estaciones del año.

Este estudio se realizó con el propósito de obtener el grado de bioacumulación para el metal en estudio en las especies en cuestión y establecer una probable relación con el tamaño del bivalvo (grande, mediano o pequeño) en las estaciones otoño, invierno, primavera y verano.

Al realizar el análisis de este metal, se pudo determinar comparativamente entre los distintos bivalvos, que la especie que acumuló más cadmio fue la ostra, presentando los niveles máximos, en todas las tallas de los bivalvos (grandes, medianos y pequeños) y en las distintas estaciones del año.

Las ostras de tallas grandes y medianas alcanzaron concentraciones máximas en el muestreo de invierno, con 5.7 mug/g y 5.0 mug/g respectivamente. En tanto, las ostras pequeñas registraron el máximo nivel del metal en el muestreo de primavera con 5.9 mug/g (Anexo 4; tabla 4.2.1).

La especie que acumuló menos metal fue el chorito, presentando mínimos, tanto en los diferentes tamaños de los bivalvos (grandes, medianos y pequeños), como en las distintas estaciones del año (Anexo 5; gráfico 5.1.1).

Las concentraciones de cadmio obtenidas en el presente trabajo, se encuentran sobre los límites permitidos por la EPA (*Environmental Protection Agency*) (tabla 4.1.2), ANHMRC (*Australian National Health and Medical Research Council*), FDA (*United State Food and Drug Administration*) y límites chilenos en todas las tallas analizadas, sin excepción. (Anexo 4; tabla 4.1.1).

Los resultados obtenidos muestran que la concentración de cadmio en ostra supera los límites considerados de alerta para el consumo humano. Ahumada, (1994) y Román *et al.*, (1994) señalan que la incorporación activa de cadmio en algunas especies, se debe a características fisiológicas tales como: el peso corporal, diferencias fenotípicas, sexo, estado de reproducción y propiedades químicas del metal, todos los cuales afectan el grado de biodisponibilidad y acumulación en los tejidos del organismo. Lobel y Wright, (1982) por su parte, adicionan factores abióticos siendo los más importantes la salinidad, temperatura, pH e interacciones con otros metales. Para Bjerregaard y Depledge, (1994) la composición iónica del medio ambiente puede afectar la acumulación de cadmio en los organismos en cuatro niveles, 1) afectando la especiación del cadmio, y por ende la biodisponibilidad en el medio ambiente, 2) por

competición con relación a los sitios de ingesta de los iones específicos en el medio, 3) las propiedades generales de permeabilidad de la superficie externa, 4) cambiando la capacidad de ligar cadmio de los tejidos.

El calcio y cadmio tiene igual carga (+2) esto nos hace suponer que el cadmio es transportado sobre las membranas vía sistema de transporte del calcio, generalmente los metales son transportados a través de espacios de la membranas celulares por un proceso de difusión facilitada o transporte mediante un huésped, puede ser una molécula receptora (generalmente una proteína), en la superficie de las membranas que ligan iones metálicos.

Según Rainbow, (1990) los metales pesados son tomados en forma pasiva del medio por los invertebrados marinos, aún cuando su concentración externa sea baja, pues la capacidad de acumular los metales en altas concentraciones depende de la regulación entre la ingesta y la excreción, y la tasa de dilución por crecimiento del cuerpo. En estudios desarrollados en *Mytilus. edulis* por Geoge y Coombs, (1977) se encontró que la tasa de excreción es 18 veces más lenta que la tasa de ingesta, como podríamos denominar a las ostras en investigación, la excreción no equipara la ingesta, por lo que la depuración es lenta, lo que podría ser una razón de la acumulación de cadmio en ostras en la presente investigación.

Thomson, (1982) muestra para *C. virginica*, a medida que las ostras crecen, la concentración de metales acumulados en ellas disminuye o se mantiene constante, lo cual concuerda con la tendencia presentada en este estudio, con excepción a lo obtenido en las ostras de tamaño mediano, en las cuales se determinó una concentración menor.

Las concentraciones encontradas en chorito no sobrepasan las normas nacionales e internacionales, con la excepción de chorito grande, que bordea el límite de la norma chilena.

En la muestreo de verano, para cadmio, se obtuvo una concentración máxima de 3.24 mug/g en ostras medianas, en tanto que chorito pequeño sólo presentó 0.42 mug/g, siendo el bivalvo que concentró menor nivel del metal (Anexo 5; gráfico 5.1.2).

Al analizar el muestreo de otoño se encontró que el máximo nivel del metal estuvo presente nuevamente en ostras, pero de la mayor talla con 2.5 mug/g, en tanto que el menor nivel del metal fue registrado en los choritos medianos con un valor de 0.31 mug/g.

En las estaciones restantes, los máximos se encontraron de igual forma en ostras, obteniéndose un valor de 5.7 mug/g en invierno y 5.9 mug/g en primavera para ostras grandes y chicas, respectivamente. En tanto, que las concentraciones mínimos se obtuvieron en choritos medianos con un valor de 0.7 mug/g en invierno y un valor de 0.35 mug/g en primavera.

Por lo tanto, la estación que presentó una mayor concentración de cadmio fue primavera con 5.9 mug/g en ostras chicas y la estación que bioacumuló menos metal fue otoño con 0.31 mug/g en choritos medianos (Anexo 4; tabla 4.2.2).

Diversos estudios se refieren a la influencia de la temperatura, la salinidad y la contaminación del medio (sedimento) en la ingesta de metales pesados, encuentran una relación inversa entre la bioacumulación de cadmio y la salinidad en ostras, mytilidos y cangrejos. Phillips, (1976 a) dice que la salinidad y la temperatura no afecta

directamente la ingesta de metales, pero sí cambios en la salinidad y temperatura podrían afectar la tasa metabólica de los organismos (Savari *et al.*, 1991).

Las temperatura altas en las estaciones de primavera y verano promueven el desove de los bivalvos con lo cual el peso del cuerpo disminuye, y la concentración de algunos metales en los organismos aumenta, tal y como lo muestran los estudios de Phillips, (1976) para el zinc, cadmio y cobre en *Mytilus edulis*, los mismo estudios fueron realizados por Talbot, (1985) en la misma especie, para cadmio. Thomson, (1982) por su parte, evaluó hierro, zinc, cadmio, cobre y plomo en *C. virginica*. Zaroogian, (1980) en igual especie, analizó cadmio y Gutiérrez A. *et al.*, (1991) en *Crassostrea gigas* estudio cadmio, aluminio y magnesio. Todos estos antecedentes bibliográficos sustentarían los resultados obtenidos en nuestro análisis, en relación a la alta concentración determinada en ostra chica (5.9 $\mu\text{g/g}$) durante el muestreo de primavera. Al respecto, es fundamental destacar que este muestreo fue realizado a principios del mes de diciembre, durante el período de desove.

Otro aspecto a evaluar es la relación que existe entre contaminación del medio y la presencia de metales en bivalvos. Se han utilizado muestras de sedimentos en áreas costeras para el seguimiento de la contaminación por metales pesados, el mayor problema que presenta el uso de estas muestras es que éstas no proporcionan una estimación directa de los metales pesados disponibles para la biota (Bryan y Hummerstone, 1977; Lyngby y Brix, 1987; Luque, 1996), pues pueden estar en una forma química no disponible para los organismos, y por tanto no son capaces de absorberlos (Luque *et al.*, 1998). De la misma manera Rozas, (2001), determinó que sólo ciertas formas químicas son tóxicas para los organismos, estas incluyen iones

libres y metales liposolubles. En consecuencia, el estudio de la fracción biodisponible o móvil de metales ligados a sedimentos es más importante, que la concentración total del metal en las corrientes fluviales (Rozas, 2001).

En estudios realizados con respecto a variaciones geográficas y estacionales en relación a metales trazas y el peso del cuerpo en *Mytilus edulis* por Cossa et al., (1979) se obtuvo un aumento en el contenido en individuos más grandes, en el período de otoño, pero a medida que cambia la estación, la tasa de acumulación en los más grandes disminuye y eventualmente se hace similar a la de los pequeños en invierno, con lo cual, se encontró una relación entre el contenido de metales traza y el peso del cuerpo, lo que indica que los individuos más pequeños eventualmente tienden a ser más ricos en metales que los más grandes, fenómeno que estaría de acuerdo con lo encontrado por Gutiérrez A. et al., (1991) en un estudio realizado en *Crassostrea gigas* (ostiones), en crecimiento (talla 51 a 99 mm) y comerciales (talla 90 a 136 mm), en la cual demostró, que ambas tallas tienen igual cinética de acumulación, similar a la obtenida por Gutiérrez A. et al., 1990 en *Chione californiense*. Los bivalvos en crecimiento concentraron más cadmio (10 mug/g) en la estación de otoño, en tanto que en los ostiones comerciales se obtuvo una concentración de (7.8 mug/g) durante invierno, lo que coincide con la mayor intensidad del fenómeno de surgencia que se produce en la estación de verano - primavera en las aguas costeras adyacentes a la zona de estudio (Alvarez y Cheebarragán, 1976).

Los resultados obtenidos en este estudio no siguen la tendencia propuesta por los autores, los valores encontrados en las ostras grandes en otoño (2.5 mug/g) fueron inferiores a los encontrados en invierno en ostras grandes (5.7 mug/g) lo que podría

deberse a una menor intensidad de los procesos de surgencia que se producen en el período de verano-primavera, también podrían ser por disolución de los metales cuando aumenta el peso del cuerpo, y/o por una disminución de la biodisponibilidad de los metales en la forma particulada y del seston orgánico.

4.1.2 Relación entre cadmio, peso y la permanencia de los bivalvos en el agua.

Este análisis permite determinar la relación entre bivalvos de la misma especie con igual permanencia en el agua, pero con pesos distintos (biomasa) que generalmente se traduce a tamaños distintos de bivalvos.

Al cuantificar ostras con dos años de permanencia en el agua, se pudo observar que las que concentraban más cadmio eran aquellas que pesaban más, en este caso la ostra que pesó 9.9 g logró concentrar 2 mug/g de cadmio, sin embargo, la que concentró menos cadmio no fue la que pesó menos, sino aquella que peso 9.1g, esta concentró 0.6 mug/g y la que peso menos (6.3g) concentró 1.84 mug/g de cadmio. Los resultados arrojados en ostras que permanecieron un período más breve de tiempo en el agua (seis meses) fueron similares a la encontrada en el período más prolongado. Las ostras con un promedio de peso de 8.6g concentraron el máximo 1.9 mug/g de cadmio y las restantes mediciones (tres mediciones) concentraron en promedio 1.2 mug/g de cadmio.

Al cuantificar choritos con un período de un año de permanencia en el agua, se pudo observar que las que concentraban más cadmio eran aquellas más pesadas, por ejemplo los choritos con un peso promedio de 4.6 g concentraron 1.49 mug/g de cadmio, mientras que los choritos de menor peso, con un promedio de 3.9g, concentraron 0.61 mug/g de cadmio (Anexo 5; gráfico 5.1.3).

Los resultados arrojados en choritos con una permanencia más breve de tiempo en el agua (tres meses) muestran que los bivalvos de mayor peso (3,0 g) concentraron 0.39 mug/g, en tanto que los choritos con un peso promedio de 2.7 g concentraron 0.34 mug/g del metal.

Las cholgas con un período de un año de permanencia en el agua, que concentraron más cadmio fueron aquellas que pesaron en promedio 7.6g con un registro de 5.7 mug/g, en tanto que las cholgas con un peso de 8.9g concentraron 0.41 mug/g.

Las cholgas que permanecieron tres meses arrojaron una concentración de cadmio equivalente a 0.63 mug/g para el promedio de peso 6.8g, mientras que las cholgas con un peso promedio de 3.8g registraron 0.38 mug/g de cadmio en promedio. (Anexo 4; tabla 4.2.3).

En base a estos datos podemos deducir que no hay una relación directamente proporcional entre el peso y el tiempo de permanencia en el agua, pues si existiese esa proporcionalidad aquel bivalvo con mayor peso y permanencia en el agua habría presentado mayor nivel cadmio debido al mayor tiempo de contacto con los metales pesados.

La tendencia de los resultados obtenidos en nuestros análisis fueron concentraciones máximas de cadmio en aquellos bivalvos más pesados, donde se presenta además mayor talla. Sin embargo, se observó que cholgas de un año de permanencia en el agua, presentaron niveles del metal inversamente proporcional al peso. Es interesante señalar que los bivalvos de menor talla presentaron altos niveles de cadmio, siendo contrario a lo ratificado por Savari A. *et al.*, (1991), el cual al

relacionar la talla, peso y edad (período de permanencia en el agua), determinó en *Cerastoderma edule* que la concentración tendía a disminuir en los individuos más viejos (grandes). Este estudio fue aplicado a todos los metales y se obtuvo más pronunciación en cobre, zinc y cadmio. Muchos factores contribuirían a esta relación de la talla, estos serían:

- ❖ -Las diferencias en la alimentación por filtración y tasas metabólicas en los individuos más viejos y jóvenes.
- ❖ -El período sobre el cual los organismos han sido expuestos a los metales.
- ❖ -Madurez sexual.

Otro análisis realizado por Boyden, (1974), demostró en moluscos bivalvos y gastrópodos, que los individuos pequeños tienen mayor tasa de ingesta de metal que los individuos más grandes, esto podría deberse a diferencias en la tasa metabólica.

Es posible que la diferencia en la tasa de acumulación del cadmio, observada en nuestro estudio se deba a las diferencias que experimenta la tasa metabólica basal de los bivalvos, gatillada por la exposición al metal.

Borden (1974), señala además que la bioacumulación a largo plazo en los adultos es resultado de la habilidad de los metales de ligarse a las proteínas y aunque en las larvas no se ha estudiado, es muy probable que también las proteínas estén involucradas. Se ha demostrado para otros bivalvos que cuando los adultos son expuestos por primera vez al cadmio, se enlazan primeramente con proteínas HMW. Con una continua exposición y/o exposición crítica hay un enlace con proteínas VLMW y MT. En ostras y ostiones el cadmio es enlazado con proteínas VLMW.

4.2 Resultados comparativos de cadmio con otros metales.

4.2.1 Concentración de cadmio en bivalvos comparado con otros metales.

Este análisis nos permite observar la bioacumulación del cadmio en bivalvos por talla, con respecto a los demás metales y evaluar los niveles que presentan estos en diferentes estaciones del año.

4.2.1.1 Muestreo de verano

La primera evaluación se produjo en la estación de verano, como resultados se obtuvo que en las especies estudiadas coincidentemente el metal que concentró más fue el hierro, este fenómeno se dio de igual forma en las diferentes tallas, la única excepción se dio en choritos grandes, donde el máximo de concentración fue para el arsénico (23 mug/g), próximo al registro del hierro (21 mug/g).

Los moluscos incorporan metales tanto de la fase disuelta como de la particulada. En el caso particular de los bivalvos, ambas fuentes tienen una importancia similar, pero en determinadas ocasiones puede predominar una u otra vía de entrada. Algunos bivalvos como el mejillón (*Mytilus edulis*) incorporan el Cd principalmente disuelto en agua, mientras que el Zn se incorpora preferentemente a partir de la forma particulada. En otros bivalvos como la almeja japónica (*Ruditapes philippinarum*) y en ostras, la incorporación tiene lugar a través de la alimentación (Wang y Fisher, 1996a).

Entre las especies, la que concentró más hierro fueron las ostras chicas, concentrando 84 mug/g, le siguió las ostras medianas con 57.7 mug/g, luego choritos chicos con 54 mug/g en promedio. Entre ellos, las concentraciones mínimas se encontraron en chorito grande con 21 mug/g, cholga chicos 28 mug/g y cholga media con 28.85 mug/g en promedio (Anexo 4; tabla 4.3.1).

Los factores que influyen en la incorporación de metales pesados por medio de la alimentación se deberían, no a la cantidad de alimento sino a la calidad del alimento. El efecto de la cantidad de alimento sobre la incorporación de metales en bivalvos ha sido estudiado por varios autores, Borchardt, (1983); Bjerregaard *et al.*, (1985) encontrando que la absorción de Cd en mejillón era inversamente proporcional a la cantidad de alimento, en cambio Wang y Fisher, (1996b) y Wang, (2001) encontraron que el efecto de la cantidad de alimento era muy pequeño. Con respecto al efecto de la calidad de alimento, se ha comprobado que dietas con diferentes proporciones de algas y sedimento influyen significativamente en la absorción de metales en *Mytilus edulis* (Wang y Fisher, 1996), *Perna viridis* (Wang y Guo, 2000) y ostra (Ettajani *et al.*, 2001). Parece que el efecto de la calidad y cantidad de alimento sobre la acumulación de Zn es menor, lo que apoya la teoría que la acumulación de este metal está regulada por los bivalvos (Amiard *et al.*, 2004; Phillips y Rainbow, 1989) (Anexo 5; gráfico 5.3.1).

El metal que menos se concentró fue el plomo, encontrándose en las diferentes tallas de los bivalvos, fuera del límite de detección del equipo.

En el caso de cadmio quien concentró el máximo fue la ostra chica con 3.4 mug/g, le siguió la ostra media con 3.24 mug/g y finalmente la ostra grande con 2.9 mug/g. las que concentraron el mínimo fueron los choritos chico con 0.42 mug/g, choritos medianos con 0.85 mug/g y cholgas grandes con 1.2 mug/g.

Según el modelo cinético de Wang y Fisher, (1996b), la concentración de un metal en el interior de un molusco puede calcularse mediante la siguiente ecuación:

$$C = [(K_u \times C_w) + (EA \times IR \times C_f)] / (K_e + g)$$

donde C es la concentración de metal en el interior del individuo, K_u es la tasa de filtración C_w es la concentración de metal en fase disuelta, EA es la eficiencia de absorción del metal ingerido en forma particulada, IR es la tasa de ingestión, C_f es la concentración de metal en las partículas ingeridas, K_e es la tasa de eliminación y g es la tasa de crecimiento. Según esta ecuación, la incorporación de metales en los bivalvos está regulada principalmente por la tasa filtración, que es el factor que genera las mayores variaciones, y la eficiencia de absorción (EA). Generalmente las ostras y almejas tienen mayores eficiencias de absorción que los mejillones (Wang, 2003). Wang, (2001), encontró que bajo las mismas condiciones, la tasa de absorción de Cd, Cr y Zn era mayor en la almeja japónica (*Ruditapes philippinarum*), que en el mejillón (*Perna viridis*). Reinfelder *et al.*, (1997) encontraron mayores EA en ostras (*Crassostrea virginica*) y almejas (*Macoma baltica* y *Mercenaria mercenaria*) que en mejillones (*Mytilus edulis*), y Wang, (2001) obtuvieron datos similares. Estas altas eficiencias de absorción serían responsables, al menos en parte, de los elevados niveles Cd y Zn encontrados en ostras respecto a los niveles observados en mejillones.

Existe una relación lineal entre la incorporación de metales disueltos en bivalvos y su concentración en el agua. Los mejillones no parecen regular la entrada de metales (excepto en el caso del Zn), y su concentración interna es directamente proporcional a la del agua. Muchos bivalvos adquieren metales con una velocidad constante, que depende de su tasa de filtración (Wang, 2001), por lo que las especies con mayores tasas de filtración acumularán mayor cantidad de metales.

A pesar de los estudios realizados, los mecanismos de acumulación de metales en bivalvos no se conocen totalmente. Los metales pueden ser incorporados mediante moléculas transportadoras, como en el caso de algunos cationes (Zn y Cd), o por difusión pasiva, presentando los primeros mayores tasas de acumulación (Wang y Fisher, 1996).

Algunas variables ambientales pueden afectar a la acumulación de metales en bivalvos. La salinidad tiene un efecto negativo sobre la acumulación de metales (Wang y Fisher, 1996; Wang, 2001), aunque este efecto depende de la especie (Lee *et al.*, 1998). La presencia de partículas coloidales puede aumentar la concentración de metales en fase particulada, lo que favorece la incorporación de metales en los bivalvos.

De acuerdo a las concentraciones promedio obtenidas en este estudio tenemos el siguiente orden de biacumulación en verano (Anexo 5; gráfico 5.2.1).

Los metales que concentraron más en orden decreciente son:

- ❖ Ostras grande: Fe > Cu > Zn > Cd > Mn > Ni > As > Pb.
- ❖ Choritos grandes: As > Fe > Ni > Mn > Cd > Cu > Zn > Pb.
- ❖ Chogas grandes: Fe > As > Ni > Cu > Mn > Cd > Zn > Pb.

- ❖ Ostras mediana: Fe > Cu > Zn > Cd > Mn > Ni > As > Pb.
- ❖ Chorito mediano: Fe > As > Ni > Cu > Mn > Cd > Zn > Pb.
- ❖ Choga mediana: Fe > Ni > As > Mn > Ni > Cd > Zn > Pb.

- ❖ Ostras pequeñas: Fe > Cu > Cd > Zn > Ni > As > Mn > Pb.
- ❖ Choritos pequeños: Fe > As > Ni > Cu > Zn > Cd > Mn > Pb.
- ❖ Cholgas pequeñas: Fe > Ni > Mn > As > Cd > Zn > Pb.

La secuencia de bioacumulación obtenida en esta estación no es comparable con los resultados obtenidos por Ahumada, (1992) y Quiroz., et al 2002 Paredes, 1998.

Esta secuencia de acumulación de metales en bivalvos difiere completamente a las secuencias encontradas en las estaciones analizadas posteriormente.

4.2.1.2 Muestreo de otoño

Al cuantificar los metales presentes en bivalvos de la estación de otoño, los resultados obtenidos arrojaron que el metal que más se concentró en las especies de bivalvos fue el hierro, este fenómeno se dio de igual forma en las diferentes tallas, la única excepción se dio en la ostra grande, donde el máximo de concentración fue para el zinc (78 mug/g) el cual estuvo muy alejado de lo concentrado por el hierro (53.3 mug/g) (Anexo 4; tabla 4.3.2).

Al observar los resultados obtenidos en bioacumulación de metales en otoño es evidente que el hierro presenta un comportamiento conservativo obteniéndose altas concentraciones durante esta estación.

La tendencia es similar a lo obtenido en la estación de verano con respecto al metal y a la especie que más bioacumuló.

Entre las especies las que concentraron más hierro, fueron las ostras medianas con 119 mug/g, le siguió las cholga grande con 74 mug/g, luego ostra grande con 53.5 mug/g. Las concentraciones mínimas se obtuvieron en chorito mediano con 24 mug/g, choritos grande 45 mug/g y cholga mediano con 47 mug/g.

El metal que menos se concentró fue el plomo, encontrándose en las diferentes tallas de los bivalvos, fuera del rango de detección del equipo. Esto podría deberse al factor de bioacumulación bajo o el escaso o nulo plomo disponible lo cual se mantuvo en todas las especies estudiadas en esta investigación y en el trabajo de Adriazola, (1985).

En el caso del cadmio quien concentró el máximo fue la ostra grande 2.5 $\mu\text{g/g}$, le siguió la ostra chica 1.8 $\mu\text{g/g}$, luego la ostra mediana 1.7 $\mu\text{g/g}$. Las que concentraron el mínimo fueron choritos chicos 0.7 $\mu\text{g/g}$, cholga chica 0.9 $\mu\text{g/g}$ y chorito mediana 0.31 $\mu\text{g/g}$ (Anexo 5; gráfico 5.2.2).

De acuerdo a las concentraciones promedio obtenidas en este estudio tenemos el siguiente orden para los metales.

- ❖ Ostra grandes : Zn > Fe > Cu > Mn > As > Cd > Ni > Pb
- ❖ Choritos grandes: Fe > Zn > As > Cu > Cd > Ni > Pb > Mn
- ❖ Cholgás grandes: Fe > Zn > Ni > As > Cu > Mn > Cd > Pb
- ❖
- ❖ Ostras mediana : Fe > Zn > Cu > As > Cd > Ni > Pb > Mn
- ❖ Choritos medianos: Fe = Zn > As > Cu > Cd > Ni > Pb > Mn
- ❖ Cholgás medianas: Fe > Zn > As > Mn > Cu > Cd > Ni > Pb
- ❖
- ❖ Ostras chicas: Cu > Ni > Cd
- ❖ Choritos chicos: Ni > Cu > Cd
- ❖ Cholgás chicos: Cu = Ni > Cd

Ahumada, (1992), encuentra en la Bahía San Vicente la siguiente secuencia de acumulación de metales $Zn > Cu > Ni > Cd > Pb > Hg > Cr$ en *Tagelus dombeii* y *Ch. chorus*. Quiroz., *et al* 1997 y Paredes, 1998 en *Tagelus dombeii* de la Bahía de Corral presenta la secuencia de acumulación de metales $Cu > Cd \approx Ni > Pb$, mientras que para *Mytilus chilensis* exhibe una secuencia de acumulación de $Cu > Cd > Ni > Pb$, la diferencia que predomina en los resultados obtenidos por los dos autores son las concentraciones de níquel y cadmio, dándose por un lado concentraciones inferiores de cadmio con respecto a níquel (Ahumada,1992) y concentraciones superiores de cadmio con respecto al níquel (Quiroz., *et al* 1997 y Paredes, 1998).

En este estudio *Mytilus chilensis* presenta la siguiente secuencia de acumulación de metales $Fe > Zn > Mn > As > Cu > Cd > Ni > Mn > Pb$ esta secuencia se mantiene en choritos grande y medianos, lo que sigue la tendencia de lo obtenido por Quiroz., *et al* 1997 y Paredes, 1998. En choritos chicos la secuencia de bioacumulación fue distinta a la encontrada por los dos autores.

En el caso de *Ostrae chilensis* y *Aulacomya ater*, también desarrolla una tendencia en la secuencia de bioacumulación descrito por Quiroz., *et al* 1997 y Paredes, 1998 donde las concentraciones de cadmio son superiores a las de níquel, la excepción se encuentra en ostra chica, cholga grande y cholga chica que siguen el mismo patrón obtenido por Ahumada, 1992.

4.2.1.3 Muestreo de invierno

Los resultados obtenidos, arrojaron que el metal que más se concentró en el muestreo de invierno en los bivalvos, fue el zinc, lo que difiere de la estación de otoño

donde el metal que concentró más fue el hierro, este fenómeno se dio de igual forma, en las diferentes especies y tallas de bivalvos estudiados.

Dentro de las especies que concentraron más estuvieron las ostras, el máximo se dio en ostras grandes concentrando 254 $\mu\text{g/g}$, este valor fue muy superior a los propuestos en la tabla de referencia de *Environmental Protection Agency* (Anexo 4; tabla 4.1.2). Le siguió las ostras medianas con 126 $\mu\text{g/g}$, luego choritos pequeños con 43 $\mu\text{g/g}$. Las concentraciones mínimas se encontraron en cholga mediana con 10.5 $\mu\text{g/g}$, chorito grande 19 $\mu\text{g/g}$ (Anexo 5; gráfico 5.2.3).

El metal que menos se concentró fue el plomo, encontrándose en las diferentes tallas de los bivalvos en estudio, fuera del límite de detección del equipo.

En el caso del cadmio quien concentró el máximo fue la ostra grande 5.7 $\mu\text{g/g}$, le siguió la ostra mediana 5 $\mu\text{g/g}$. Las que concentraron el mínimo fueron choritos medianos 0.7 $\mu\text{g/g}$, cholga mediana 0.85 $\mu\text{g/g}$ (Anexo 4; tabla 4.3.3).

Páez O. y Marmolejo, (1990) en los estudios realizados en *Crassostrea corteziensis* encontró que los niveles de hierro, magnesio, cadmio y cromo fueron relativamente constantes, mientras que el níquel, cobalto y plomo simultáneamente demostraron un enriquecimiento en los meses de otoño-invierno, cuando las temperaturas del agua de mar disminuye. Lo que no se presentó en este trabajo pues los niveles de los metales en general sufrieron fluctuaciones en las distintas estaciones del año.

De acuerdo a las concentraciones promedio obtenidas en este estudio tenemos el siguiente orden para los metales.

- ❖ Ostras grandes: Zn > Fe > Cu > Cd > Ni > Mn > As > Pb
- ❖ Choritos grandes: Zn > Fe > As > Ni > Mn > Cu > Cd > Pb
- ❖ Cholgás grandes: Zn > Fe > As > Ni > Cu = Mn > Cd > Pb

- ❖ Ostras mediana: Zn > Fe > Cu > Cd > Mn > As > Ni > Pb
- ❖ Choritos medianos: Zn > Fe > As > Ni > Mn > Cu > Cd > Pb
- ❖ Cholgás medianas: Zn > Fe > Cu > Ni > Mn > As > Cd > Pb

Si comparamos estos resultados con los obtenidos por Ahumada, (1992) y Quiroz., et al 2002 Paredes, 1998 se obtiene, que la tendencia en la secuencia encontrada en el presente estudio es similar a la obtenida por Ahumada (1992), difiriendo solamente, en la concentración obtenida del cobre, lo cual, en este caso es inferior a la concentración obtenida por el níquel, por ambos autores. Se presentó esta misma tendencia en todos los bivalvos, menos las cholgás grandes donde se obtuvo la misma secuencia descrita por Ahumada, (1992) guardando las proporciones ya que en el presente estudio hubo más metales analizados.

4.2.1.4 Muestreo de primavera

Al cuantificar los metales presentes en los bivalvos de la muestreo de primavera, los resultados obtenidos arrojaron que el metal que más se concentró en las especies de bivalvos fue el zinc, este fenómeno se dio de igual forma, en las diferentes tallas, la única excepción estuvo en choritos medianos, donde el máximo de concentración fue para el hierro (11.5 mug/g) cercano a lo cuantificado para el zinc (10.5 mug/g).

Las ostras grandes concentraron 87.5 mug/g, este fue el máximo, le siguió las ostras medianas con 85.5 mug/g. Las concentraciones mínimas se encontraron en

cholgas medianas con 10 mug/g, choritos medianos 10.5 mug/g (Anexo 5; gráfico 5.2.4).

El metal que menos se concentró fue el plomo y el níquel, encontrándose ambos en las diferentes tallas de bivalvos en estudios, fuera del límite de detección del equipo.

En el caso del cadmio quien concentró el máximo fue la ostra chicas 5.9 mug/g, le siguió el chorito chico con 2.9 mug/g, tanto las ostras medianas como las cholgas grandes concentraron 2 mug/g. Las que concentraron el mínimo fueron choritos medianos 0.35 mug/g y choritos grandes 0.8 mug/g (Anexo 4; tabla 4.3.4).

De acuerdo a las concentraciones promedio obtenidas en este estudio tenemos el siguiente orden para los metales.

Ostras grandes: Zn > Fe > Cu > Mn > Cd > As > Ni > Pb

Choritos grandes: Zn > Fe > Cu > Cd = As > Ni > Mn > Pb

Cholgas grandes: Zn > Fe > As > Cd > Cu > Ni > Mn > Pb

Ostras medianas: Zn > Fe > Cu > Cd = Mn > As > Ni > Pb

Choritos medianos: Fe > Zn > Cu > As > Cd > Ni > Mn > Pb

Cholgas medianas: Zn > Fe > Cu > As > Cd > Ni > Mn > Pb

Ostras chicas: Cu > Ni > Cd

Choritos chicos: Cu > Ni > Cd

Cholgas chicas: Ni > Cd > Cu

Haciendo nuevamente la comparación con los autores Ahumada, (1992) y Quiroz., *et al* 1997 y Paredes, 1998 se obtiene una inclinación a la secuencia encontrada por Quiroz., *et al* 1997 y Paredes, 1998, donde se presenta la concentración de cadmio mayor a la de níquel, este fenómeno se repitió en todas las especies y tallas de los bivalvos sin excepción, lo cual es opuesto a lo encontrado en invierno.

El mejillón acumula níquel tanto del agua en forma disuelta, como en forma particulada y a través del alimento, fundamentalmente en la glándula digestiva y branquias (Friedrich y Filice, 1976; Stokes, 1988; Punt *et al*, 1998; Irato *et al*, 2003).

La acumulación de níquel es directamente proporcional a su concentración en el agua, aunque algunos autores han encontrado umbrales de concentración por debajo de los cuales la concentración no parece tener efecto sobre la acumulación.

La eliminación del níquel tiene lugar tanto en forma disuelta como a través de las heces. La importancia de una u otra forma de eliminación depende de la vía de acumulación predominante como ocurre con otros metales (Wang *et al*, 1996). El níquel ingerido con el alimento se elimina fundamentalmente con las heces, donde se pueden encontrar grandes cantidades, que probablemente no ha sido asimilado (Punt *et al*, 1998).

En resumen la secuencia de bioacumulación de los ocho metales analizados, proporcionó una tendencia muy clara al ser comparados con los autores antes señalados, proporcionando un patrón a seguir, la información que se logró recopilar fue muy interesante pues justamente existe una tendencia en todas las estaciones del año,

con excepción de verano, para uno u otro autor y que esta inclinación solamente depende de la concentración de cadmio versus níquel.

La excepción presentada en verano podría deberse a la diferencia en el tratamiento de las muestras.

4.3 Resultados de cadmio comparando con otros metales en distintos períodos de maduración.

4.3.1 Concentración de cadmio y otros metales, relacionado al peso con la permanencia de los bivalvos en el agua.

Este análisis permite determinar la relación que pudiera existir, entre bivalvos de la misma especie que poseen igual permanencia en el agua, pero con pesos distintos (biomasa) que generalmente se traduce a tamaños distintos de los bivalvos.

En este análisis se evaluaron dos períodos de permanencia en el agua por cada especie de bivalvos.

4.3.1.1 Concentración de cadmio y otros metales, en la especie de *Ostrae chilensis*, en períodos de dos años y seis meses de permanencia en el agua.

Al cuantificar ostras con dos años de permanencia en el agua, se pudo observar que el metal que más se concentró fue el zinc, sin excepción. La ostra que concentró el máximo de zinc fue aquella con un peso promedio de 9.7g con 88 $\mu\text{g/g}$, la que concentró menos fue en aquella con un peso de 9.08g con 60 $\mu\text{g/g}$. Otro metal que logró una concentración alta fue el hierro, con un máximo de 14 $\mu\text{g/g}$ en la ostra de peso promedio 9.08g, en tanto que el mínimo se presentó en la ostra con un peso

promedio de 6.3g y un registro de 7 mug/g. El metal que concentró menos fue el níquel cuya concentración se encontraba fuera del límite de detección (Anexo 4; tabla 4.4.1).

Los resultados arrojados en ostras que permanecieron un período más breve de tiempo en el agua (seis meses) fue similar a la encontrada en el período más prolongado, siendo el zinc el metal que más se acumula, presentando el máximo en la ostra con un peso de 8.58g el cual concentró 81 mug/g y el que menos bioacumuló zinc, es aquella que pesó 3.38g concentrando 47 mug/g, otro metal que logró una concentración alta fue el hierro, con un máximo de 12 mug/g presente en la ostra que pesó en promedio 1.4g y el mínimo de 8 mug/g, presente en la ostra con un peso promedio de 1.1g. El níquel nuevamente es el que concentró menos en esta especie, encontrándose fuera del límite de detección del equipo (Anexo 5; gráfico 5.2.5).

No está muy clara la tendencia en la secuencia de bioacumulación de los resultados obtenidos en ostras de dos años, donde se presenta semejanza en ostras con pesos de 9.7g y 9.1g, las cuales arrojaron la siguiente secuencia: Zn > Fe > Cu > As > Mn > Cd > Pb > Ni, en la ostra con un peso de 9.1 g se presentó diferencias entre el cadmio y el plomo, este último presenta una concentración mayor, lo que difiere de lo presentado en la secuencia. En las otras muestras analizadas en el mismo período (dos años), no existe un patrón de acumulación.

Con respecto a las ostras con un período de seis meses, la secuencia encontrada no se presentó en todas las ostras analizadas, solamente en dos de ellas, y esta fue igual a la expuesta anteriormente, por lo que en esta especie de bivalvos, el período de exposición (2 años y 6 meses) influyó en un 50% la bioacumulación de los metales.

4.3.1.2 Concentración de cadmio, y otros metales en la especie de *Mytilus chilensis*, en períodos de un año y tres meses de permanencia en el agua.

Al cuantificar choritos con un período de un año de permanencia en el agua, se pudo observar que el metal que concentró más, fue el zinc, sin excepción. El chorito que concentró el máximo de zinc fue aquella con un peso 4.56g con 47 $\mu\text{g/g}$, el que concentró menos fue en aquel con un peso de 3.95g con 29 $\mu\text{g/g}$, otro metal que logró una concentración alta fue el hierro, con un máximo presente en la ostra con un peso de 3.95g con 20 $\mu\text{g/g}$ y el mínimo presente en la choritos con un peso de 4.11g con 14 $\mu\text{g/g}$, los metales que se concentraron menos fue el níquel y cobre cuyas concentraciones se encontraban fuera del límite de detección (Anexo 5; gráfico 5.2.5).

Los resultados arrojados en choritos que permanecieron un período más breve de tiempo en el agua (seis meses) fue similar a la encontrada en el período más prolongado, siendo el zinc el metal que más se acumuló, presentando el máximo en los choritos con un peso promedio de 2.74g que concentraron 44 $\mu\text{g/g}$ y los que menos concentraron zinc fueron aquellos con un peso promedio de 2.98g y un registro de 21 $\mu\text{g/g}$. Otro metal que logró una concentración alta fue el hierro, con un máximo de 34 $\mu\text{g/g}$ presente en los choritos con un peso de 3.01g y el mínimo de 6 $\mu\text{g/g}$ presente en los choritos con un peso de 2.98g. Los metales que concentraron menos fueron el níquel, plomo y cobre cuyas concentraciones se encontraba fuera del límite de detección (Anexo 4; tabla 4.4.1).

Los resultados obtenidos de la acumulación de metales en choritos de un años es mucho más clara que la anterior, la tendencia en la secuencia de bioacumulación

presenta semejanza en las muestras de choritos analizadas, considerando tanto las muestras de un año como las de tres meses, las que arrojaron la siguiente secuencia: $Zn > Fe > As > Mn > Pb > Cd > Cu = Ni$, podemos ver diferencias con respecto a la secuencia encontrada en ostras, estas diferencias radican principalmente en la concentración del cobre versus el arsénico, siendo este último mayor. En los choritos analizados, existen muestras que no presentan una tendencia de acumulación como el descrito, por lo que en esta especie de bivalvos, el período de exposición (1 años y 3 meses) influyó en un 75% la bioacumulación de los metales.

4.3.1.3 Concentración de cadmio, y otros metales en la especie de *Aulacomya ater*, en períodos de un año y tres meses de permanencia en el agua.

Al cuantificar las cholgas con un período de un año de permanencia en el agua, se pudo observar que el metal que concentró más fue el hierro, sin excepción. La cholga que concentró el máximo de hierro fue aquella con un peso 10.33g con 24 $\mu\text{g/g}$, el que concentró menos fue en aquel con un peso de 7.61g con 15 $\mu\text{g/g}$, otro metal que logró una concentración alta fue el zinc, con un máximo presente en la cholga con un peso de 10.33g con 1.49 $\mu\text{g/g}$ y el mínimo presente en la cholga con un peso de 7.61g con 0.9 $\mu\text{g/g}$, los metales que concentraron menos fueron el níquel y cobre cuyas concentraciones se encontraban fuera del límite de detección (Anexo 5; gráfico 5.2.5).

Los resultados arrojados en las cholgas que permanecieron un período más breve de tiempo en el agua (seis meses) fue similar a la encontrada en el período más prolongado, siendo el hierro el metal que más se acumula, presentando el máximo en la cholga con un peso promedio de 6.78g, el cual concentró 24 $\mu\text{g/g}$ y el que menos

concentró zinc es aquella con un peso 3.8g, con un registro de 6 mug/g, otro metal que logró una concentración alta fue el zinc, con un máximo de 1.8 mug/g presente en las cholgas con un peso promedio de 5.26g y el mínimo de 0.87 mug/g presente en las cholgas con un peso promedio de 3.8g. Los metales que concentraron menos fueron el níquel, cobre y manganeso cuyas concentraciones se encontraban fuera del límite de detección (Anexo 4; tabla 4.4.1).

De los resultados obtenidos en la acumulación de metales en cholgas de un años es clara la tendencia en la secuencia de bioacumulación, presentándose semejanza en todas las cholgas analizadas de un año, las que arrojaron la siguiente secuencia: Fe > As > Zn > Mn > Pb > Cd > Cu = Ni , en el caso de cholgas de tres meses la secuencia es: : Fe > As > Zn > Pb > Cd > Cu = Ni > Mn se presenta semejanza en todas las cholgas de tres meses, la diferencia entre cholgas de un año y cholgas de tres meses es la concentración de magnesio el cual es menor en cholgas de tres meses.

Debido a que los metales esenciales son acumulados más fácilmente, les permite actuar como componentes estructurales o catalíticos indispensables para el crecimiento, jugando un papel importante en la bioquímica del organismo como factores enzimáticos, con la tendencia de incrementarse con el tiempo de exposición y la talla del cuerpo.

Los valores de concentración elevados coinciden con los reportados por otros investigadores, ejemplo los mejillones han sido considerados como fuertes acumuladores de zinc, al igual que las ostras debido a que es un elemento metabólicamente necesario durante el ciclo de vida de muchos bivalvos (George *et al.*, 1977).

El efecto de los metales pesados en el ambiente, no solo reviste importancia desde el punto de vista de la salud humana, Echegaray *et al.*, (1988) destaca que los individuos muestreados en los sitios más alejados de la contaminación, poseen mayor tamaño y peso que aquellos colectados cerca del sitio de emisión de metales pesados.

Se ha demostrado que existen diferencias en la tolerancia, acumulación y reacción de las diferentes especies, a los metales pesados. En este sentido, si existen diferencias interespecificas en la tolerancia a algunos metales, esto podría tener importantes consecuencias ecológicas en la competencia entre especies de un mismo habitat contaminado (Forbes y Deplebge, 1992). La polución puede alterar la composición y estructura de una comunidad, sin embargo, la forma en que puede modificarla es un fenómeno más complejo.

5. CONCLUSIÓN

Se acepta parcialmente la hipótesis de este trabajo en relación a los niveles de Cadmio presente en moluscos (Bivalvos), los cuales varían con la estación del año en la cual se extraen desde el mar. Se rechaza la proporcionalidad de la bioacumulación al grado de madurez y/o tamaño del organismo analizado.

La especie que bioacumula más cadmio es la *Ostrea chilensis*, lo cual es coincidente tanto en distintos tamaños de bivalvos (grandes, medianos y chicos) como en las diferentes estaciones del año evaluadas. La que bioacumuló menos cadmio fue la especie de *Mytilus chilensis* tanto para los distintos tamaño, como para las diferentes estaciones del año evaluadas.

La estación de primavera fue en la cual se alcanzó mayor concentración de cadmio, en *Ostrea chilensis* chica y la estación que bioacumuló menos cadmio fue otoño en *Mytilus chilensis* medianas.

No existe una relación proporcional entre el peso de los bivalvos y el tiempo de permanencia de este en el agua.

La secuencia de bioacumulación de metales en la estación de otoño y primavera se inclinó por lo expuesto por Quiroz., *et al* 1997 y Paredes, 1998, mientras que la secuencia encontrada en invierno tenía tendencia a lo expuesto por Ahumada, (1992).

La estación de verano entregó una secuencia de bioacumulación de los metales analizados, no comparables con los autores. (Ahumada 1992 y Quiroz., *et al* 1997 y Paredes, 1998). En las estaciones de invierno y primavera el metal que se bioacumuló

más, fue el zinc, y el que menos fue el plomo, en la estaciones de otoño y verano el máximo se encontró en hierro y mínimo en plomo.

Los resultados que arrojaron las *Ostrea chilensis* con distintos períodos de permanencia en agua (2 años y 6 meses), fue la siguiente secuencia: Zn > Fe > Cu > As > Mn > Cd > Pb > Ni, por lo que el tiempo de exposición influyó en un 50% en la bioacumulación de los metales.

Los resultados entregados en *Mytilus chilensis* con distintos periodos de permanencia en agua (1 años y 3 meses), fue la siguiente secuencia: Zn > Fe > As > Mn > Pb > Cd > Cu = Ni, por lo que el tiempo de exposición influyó en un 75% en la bioacumulación de los metales.

En *Aulacomya ater* con 1 año de permanencia en agua fue la siguiente secuencia: Fe > As > Zn > Mn > Pb > Cd > Cu = Ni en la cual, en el caso de cholgas de tres meses la secuencia es: Fe > As > Zn > Pb > Cd > Cu = Ni > Mn se presenta semejanza en todas las cholgas de tres meses, la diferencia entre cholgas de un año y cholgas de tres meses es la concentración de manganeso la cual es menor en las cholgas de tres meses.

6. BIBLIOGRAFIA

- Abraham, E.; Flores G.; Pro R.; Villaescisa J. y González J. (1991).** Contaminación por Metales Pesados del Estuario de Guadalquivir. Servicio Publicaciones Universidad de Cádiz, España, pp. 165-203.
- Adriazola, X. (1985).** Determinación del Nivel de Mercurio y Plomo en *Mytilus chilensis* (“choritos”) Tesis Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Patologías Animal y farmacología, Universidad Austral de Chile, 10pp.
- Ahumada, R. (1992).** Patrones de distribución espacial de Cr, Ni, Cu, Zn, Cd y Pb, en sedimentos superficiales de Bahía San Vicente, Chile. *Rev. Biol. Mar.*, Valparaíso, 27 (2): 256 – 282.
- Ahumada, R. (1994).** Nivel de Concentración e Índice de Bioacumulación para Metales Pesados (Cd, Cr, Hg, Cu,Pb y Zn) en Tejidos de Invertebrados Bentónicos de la Bahía San Vicente, Chile. *Rev. Biol. Mar.*, Valparaíso, 29 (1): 77 - 87.
- Ahumada, R. (1995).** Áreas de uso múltiple, un enfoque holístico del problema de contaminación. *Cienc. Tecnol. Mar.*, Valparaíso: 59 – 68.
- Alarcón, S. (2003).** Determinación de Elementos traza (Cd, Cu, Ni, Pb, Hg y As) en Agua de Mar y Sedimento de la Bahía de Puerto Montt, Año 2002. Tesis, Escuela de Química y Farmacia. Facultad de Ciencias. Universidad Austral de Chile. 84 p.
- Alvarez S. y Cheebarragán A. (1976).** Distribución superficial de fosfatos y silicatos en Bahía San Quintín California. *Ciencias Marinas*, 3 (1): 51-61.
- Amiard, J.C., Bacheley, H., Barillé, A.L., Barillé, L., Geffard, A. and Himery, N. (2004).** Temporal changes in nickel and vanadium concentrations and in condition index and metallothionein levels in three species of molluscs following the “Erika” oil spill.

Aquatic Living Resources 17 (3): 281-288. and lead content of canned tuna fish». *Food Chemistry* 67, 341-345.

André H. M. (1994). Pollution Biomonitoring : A Summing Up. En : Renzoni, Mattei, Lari and Fossi (Eds.) Contaminants in the Environment : 37 – 62. CRC Press.

Azevedo, H.; Monken, H.; Melo, V. (1988). Study of Heavy Metal Pollution in the Tributary Rivers of the Jacarepagua Lagoon, Rio de Janeiro State, Brazil, Through Sediment Analysis. En: U. Seeliger, L. De Lacerda, S. Patchineelam (Eds) Metals in Coastal Environments of Latin America: 21 – 29.

Baran, J. (1995). Química Bioinorgánica. Mc. Graw-hill/ interamericana, Madrid. 321pp.

Bjerregaard, P and Depledge, M. H. (1994). Cadmium Accumulation in *Littorina littorea*, *Mytilus edulis* and *Carcinus maenas*: the Influence of Salinity and Calcium ion Concentrations. *Marine Biology*, 119 : 385 – 395.

Bjerregaard, P., Topçuoğlu, S., Fisher, N.S. y Fowler, S.W. (1985). Accumulation and retention of ^{237}Pu and ^{241}Am in the mussel *Mytilus edulis*. *Marine Ecology Progress Series* 21: 99-111.

Blasco, J., Puppo, J., Gonzalez de Canales, M.L y Sarasetee, C. (1993). Acumulación y efectos histopatológicos del cobre en *Liza aurata* L. Y *Sparus* L. Series de Química Oceanográfica. Ser. II Vol 2/3, pp. 159-174.

Blasco, J., Sáenz, V., Arias, A.M., Gonzales- Pascual, R., Campana, O., Ransome, T., Moreno-Garrido, I. y Hampel, M. (2003). Efecto del accidente minero sobre los organismos residentes en el estuario del Guadalquivir y en las zonas de la plataforma próxima a la desembocadura. En : J. Forja y A. Gómez-Parra (eds.), Contaminación por

Metales Pesados del Estuario de Guadalquivir. Servicio Publicaciones Universidad de Cádiz, España, pp. 165-203.

Borchardt T, S. Burchert, H. Hablizal, L. Karbe and R. Zeitner (1988). Trace metal concentration in mussels: Comparison between estuarine, coastal and offshore regions in the southeastern North Sea from 1983 to 1986 *Marine Ecology*, 42 (1): 17 – 31.

Borchardt, T. (1983). Influence of food quantity on the kinetics of cadmium uptake and loss via food and seawater in *Mytilus edulis*. *Marine Biology* 76 (1): 67-76.

Borden, C.R. (1974). Trace Element Content and Body Size in Molluscs. *Nature*, vol. 251: 311-314

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

Bryan, G. y Langston, W. (1992). Bioavailability, Accumulation and Effects of Heavy Metals in Sediments with Special Reference to United Kingdom Estuaries: A review, *Environmental Pollution* 76: 89 – 131.

Cajaraville, M.P., Bevianno, M.J., Blasco, J., Porte, C., Sarasquete, C. and Viarengo, A. (2000). The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: A practical approach. *Sci. Total Environ.*, 47: 295-311.

Canli, M y Furness RW. (1993). Toxicity of heavy metals dissolved in sea water and influences of sex and size in metal accumulation and tissue distribution in the *Norway lobster Nephrops norvegicus*. *Mar. Environ. Res.* 36: 217-236.

Chang, L. W. (1996). Toxicology of metals. Lewis Publishers- CRC Press, Boca Ratón.

Chiang, J. (1988). Niveles de metales pesados en organismos, agua y sedimentos marinos recolectados en la V región de Chile. Memorias del Simposio Internacional de los Recursos Vivos y las Pesquerías en el Pacífico Sudeste Chile, Viña del Mar, 9-13 mayo, Pág. 205-215.

Copa-Rodríguez, F. J., Basadre-Pampín, M. I. (1994) «Determination of iron, copper and zinc in tinned mussels by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-EAS)». Fresenius J. *Anal. Chem.* 348, 390-395.

Cossa D., E. Bourget and J. Piuze. (1979). Sexual maturation as source of variation in the relationship between cadmium concentration and body weight of *M. edulis* (L). *Mar Pollut.* 10: 174-176.

De Gregori I., Pinochet H., Gras N. and Muñoz L. (1996). Variability of Cadmium, Cooper and Zinc Levels in mollusks and Assciated Sediments From Chile. *Environ. Pollut.*, 92 (3) : 359 – 368.

Dekov, V.M., Araujo, F., Van Grieken, R. and Subramanian, V. (1998). Chemical composition of sediments and suspended matter from the Cauvery and Brahmaputra rivers (India). *The Science of theTotal Environment* 212, 89-105p.

DelValls, T.A., Sáenz, V., Arias, A.M. and Blasco, J. (1999). Thallium in the marine environment: First ecotoxicological assessments in the Guadalquivir estuary and its potential adverse effect on the Doñana European Natural Reserve after the Aznalcóllar mining spill. *Cienc. Mar.*, 25 (2): 161-175.

Diaz O. (1993). Tagelus dombeii como organismo indicador de la calidad del agua marina en la zona costera de la bahía San Vicente (VIII Región, Chile) y del riesgo de contaminación por mercurio y metilmercurio de origen antrópico. Tesis para optar al

grado de Doctor en Ciencias Ambientales. Centro EULA Chile. Universidad de Concepción, Chile.

Díaz, O. and García, M. (2003). Avances en toxicología de contaminantes químicos en alimentos. Segunda edición. Impreso y Editado por el programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED) y la Universidad de la Frontera.

Díaz-Mendez, F.M., Rodríguez-Ariza, A., Usero-García, J., Pueyo, C. and López-Barea, J. (1998). Mutagenic activation of aromatic amines by molluscs as a biomarker of marine pollution. *Environ. Mol. Mutagen.*, 31 (3): 282-291.

Downs. SG, Macleod CL, Lester JN. (1998). Mercury in precipitation and its relation to bioaccumulation in fish. A literature review. *Water, Air, Soil Pollut* 108: 149-187.

Echegaray, M.; Guerin, C. M.; Hinojosa, I.; Zambrano, W. y Taype, L. (1988). Vigilancia de la contaminación marina por metales pesados en áreas críticas. (Moluscos bivalvos como indicadores). *Memorias del Simposio Internacional de los Recursos Vivos y las Pesquerías en el Pacífico Sudeste Chile, Viña del Mar, 9 –13 mayo, 1988: 179 – 189.*

Eisler, R. (2000). Handbook of Chemical Risk Assessment, Hazard to Humans, Plants and Animal. Lewis publishers, Boca de Raton, Florida, 650 p.

Ettajani, H., Berthet, B., Amiard, J.C. and Chevolut, L. (2001). Determination of cadmium partitioning in microalgae and oysters: contribution to the assessment of trophic transfer. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 40 (2): 209 – 221.

Fant ML, Nyman M, Helle E, Rudback E. (2001)- Mercury, Cadmium, lead and Selenium in ringed seals (*Phoca hispida*) from the Baltic Sea from Svalbard. Environ. Pollut. 111: 493-501.

FAO/SIDA. (1983). Manual de métodos del medio ambiente acuático. Parte 9. Análisis de la presencia de metales y órgano clorados en los peces. FAO, Documento técnico de pesca / 212, 35p.

FDA, United State Food And Drug Administration (1993 a). Center for Food Safety and Applied Nutrition. Guidance Document for Cadmium in *Shellfish*. January 1993, 4 pp.

FDA, United State Food And Drug Administration (1993 b). Center for Food Safety and Applied Nutrition. Guidance Document for Lead in *Shellfish*. August 1993, 4 pp.

FDA, United State Food And Drug Administration (1993 c). Center for Food Safety and Applied Nutrition. Guidance Document for Nickel in *Shellfish*. January 1993, 3 pp.

Forbes, V. E. y Depledge, M. H. (1992). Cadmium Effects on the Carbon and Energy Balance of Mudsnaills. *Marine biology*, 113: 263-269.

Förstner, U. and Wittman, G.T.W. (1981). Heavy metal pollution in the aquatic environment (2nd Ed.) Springer-Verlag. Berlin. Heidelberg New York, pp 486.

Förstner, U., Ahlf, W. and Calmano, W. (1993). Sediment quality objectives and criteria development in Germany. *Water Science Technology* 28(8-9), 307-316.

Förstner, U., Ahlf, W., Calmano, W. and Kersten, M. (1990). Sediment criteria development. In: Heling D, Rothe P, Förstner U, and Stoffers P (Eds), *Sediments and environmental Geochemistry*. Berlin: Springer-Verlag, pp 311-338.

- Frazier J., S. George and J. Overnell. (1985).** Characterization of two molecular weight classes of Cd binding proteins the *Mytilus edulis*. *Comp. Biochem. Physiol*, 80: 257-262.
- Frew, R; Hunter, K. (1995).** Cadmium-phosphorus cycling at the subtropical convergence south of New Zealand. *Marine Chemistry* 51: 223-237.
- Friedrich, A.R. and Filice, F.P. (1976).** Uptake accumulation of the nickel ion by *Mytilus edulis*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 16: 750-755.
- Garrels R., F. Mackensie and C. Hunt. (1975).** Chemical cycles and the global environment assessing human influences. W-K. Los Altos, California, USA. 206p.
- George, S.C y Coombs, T.L. (1977).** The Effects of Chelating Agents on the Uptake and Accumulation of Cadmium by *Mytilus edulis*. *Marine Biology*, 39: 261-268.
- Gray, N. (1996).** Calidad del agua potable: problemas y soluciones. Acribia, Zaragoza. 365pp.
- Gutiérrez E., J. Villaescusa y Arreol. (1999).** Bioacumulación de metales de cuatro sitios selectos de la región costera de Baja California. *Ciencias Marinas* 25 (4): 557-578.
- Gutiérrez- Galindo, E.A.G. Flores Muñoz, G Olgín Espinoza y J.A Villaescusa (1990).** Biodisponibilidad de metales trazas en almejas y mejillón del valle Agrícola de Mexicali y Alto Golfo de California. *Ciencias Marinas*. 16 (4) 1-28.
- Gutiérrez, E. A., Flores, G., Pro, R., Villaescusa, J, A. y González, J. A. (1991).** Metales pesados en tejidos y en biodepósitos sedimentarios del ostión *Crassostrea gigas* de la zona de cultivo de bahía San Quintín, Baja California, México. *Invest. Mar. CICIMAR*, vol. 6(1): 176-186.
- Harrison, P., Hoare, R. (1980).** Metals in Biochemistry, Chapman y Hall, London, capítulo I.

Hight S. and M. Corcoran (1987). Rapid determination of methylmercury in fish and shellfish. Method development Journal Association Oficial Analytical Chemistry, 70 (1): 24 – 30.

Hight S. (1987). Rapid determination of methylmercury in fihs and *shellfish*: collavorative study Journal Association Oficial Analytical Chemistry, 70 (4): 667 – 672.

Horne, R. A. (1969). Marine Chemistry: the structure of water and the chemistry of the hydrosphere. New York; Wiley-Interscience. Cap. 13.

INTA (1988). Conocimientos actuales de Nutrición. Universidad de Chile, Santiago.

International Programe on Chemical Safety (IPCS). (1998). Environmental Health. Criteria 86. Mercury. Environmental Aspects. World Health Organization (WHO), United Nations (UN).

Irato, P., Santovito, G., Cassini, A., Piccinni, E. and Albergoni, V. (2003). Metal Accumulation and Binding Protein Induction in *Mytilus galloprovincialis*, *Scapharca inaequalvis*, and *Tapes philippinarum* from the Lagoon of Venice. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 44: 476 - 484.

Izaguirre, G., Paéz, F. and Osuna, J. I. (1192). Metales pesados en peces del valle de Culiacan, Sinaloa, Mexico. *Ciencias Marinas*, vol. 18 (3) : 143 – 151.

J.R., Wang, W.X., Luoma, S.N. and Fisher, N.S. (1997). Assimilation efficiencies and turnover rates of trace elements in marine bivalves: a comparison of oysters, clams, and mussels. *Marine Biology* 129: 443-452.

Juras, A (1998). A preliminary survey of heavy metal concentration in some estuarine organisms in the litoral zone of Sao Luis Island, Maranhao, Brazil. In : U. Seeliger, L. D.

de Lacerda, S. R. Patchineelam (Eds.) Metals in Coastal Environments of Latin America : 16 – 20.

Kennish MJ. (1991). Ecology of Estuaries: Anthropogenic Effects. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Kennish MJ. (1997). Practical Handbook of Estuarine and Marine Pollution. CRC Press, Boca Ratón, Florida, 524 pp.

Kimbrough, D., Cohen, Y., Winer, A., Creelman, L. and Mabuni, C. (1999). A Critical Assessment of Chromium in the Environment. Critical Reviews in *Environmental Science and Technology* 29, 1: 1 – 46.

L Chang, L. W. (1996). Toxicology of Metals. Lewis Publishers-CRC Press, Boca Ratón.

Laws, E.A. (1981). Aquatic Pollution. An Introductory Text. J. Wiley and Sons. N.Y.

Gutiérrez E., J. Villaecusa y A. Arreola. 1999. Bioacumulación de metales de cuatro sitios selectos de la región costera de Baja California. *Ciencias Marinas* 25(4): 557-578.

Lee, B.G., Wallace, W.G. and Luoma, S.N. (1998). Uptake and loss kinetics of Cd, Cr and Zn in the bivalves *Potamocorbula amurensis* and *Macoma balthica*: effects of size and salinity. *Marine Ecology Progress Series* 175: 177-189.

Loaban CS, PJ Harrison & MJ Duncan. (1985), The Physiological Ecology of Seaweeds. Cambridge University Press. London.

Lobel P. and D. Wright. (1982). Gonadal and nongonadal zing concentration in mussel. *Mar. Pollut. Bull*, 13:323-329.

Lopez- Barea, J. y Pueyo, C. (1998). Mutagen content and metabolic activation of promutagens by molluscs as biomarkers of *marine pollution Mutat. Res. Mar.*, 13 (399): 3-15.

- Lucassen , E., Smolders, A. and Roelofs, J. (2000).** Increased groundwater levels cause iron toxicity in *Glyceria fluitans* (L.). *Aquatic Botany* 66: 321-327.
- Luque, C. (1996).** Tipificación, cartografía y contenidos en metales pesados de comunidades vegetales de las Marismas del Odiel. Dinámica poblacional del género *Spergularia*. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla.
- 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.
- Marschner, H. (1995).** Mineral Nutrition of Higher Plants. 2da Ed. Academic Press, London. 889pp.
- Mas, A., Azcúe, J. M. (1993)** Metales en Sistemas Biológicos. Ed. Promociones y Publicaciones Universitarias, Barcelona.
- Matte, T. (2003).** Efectos del plomo en la salud de la niñez. *Salud pública México*. 45(2), 220-224.
- Miles AK y Hills S. (1994).** Metals in diet of Bering Sea Walrus: *Mya Sp.* As a possible transmitter of elevated cadmium and other metals. *Mar. Pollut. Bull.* 28 (7): 456-458.
- Minganti v, R. Capelli and R. de Pelligrini (1990).** The presence of inorganic and organic mercury and selenium in *Nephrops norvegicum* from the Ligurian Sea. *The Science of Total Environment*, 95: 53 – 60.

- Monni, S., Uhlig, C., Hansen, E. and Magel, E. (2001).** Ecophysiological responses of *Empetrum nigrum* to heavy metal pollution. *Environmental Pollution*. 112, 121-129.
- Muñoz C, Devesa V, Suñer MA, Véles D, Montoso R, Urieta I, Macho ML, Jalón M. (2000).** Total and inorganic arsenic in fresh and processed fish products. *J. Agric. Food Chem.* 48: 4369-4376.
- Murray, K.S. (1996).** Statistical comparisons of heavy metal concentrations in River sediments. *Environmental Geology* 27, 54-58.
- Neff JM. (2002).** Bioaccumulation in Marine Organisms. Effect of contaminants from oil Well Produced Matter. Elsevier. Science, Oxford.
- Nelson, P. (1996).** Concentración de Metales Pesados en Invertebrados, Helófitos y Sedimento del Complejo Estuarial Valdiviano. Tesis, Escuela de Biología Marina. Facultad de Ciencias. Universidad Austral de Chile. 52 p.
- Paez O., F. y C. Marmolejo R.,(1990).** Trace metals in tropical coastal lagoons bivalves, *Crassostrea corteziensis*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 45: 538-544.
- 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.
- Paris, E. (2000).** *Intoxicaciones: Epidemiología, Clínica y Tratamiento*. U. Católica de Chile, Santiago. 302pp.
- Peterson SA, Herlihy AT, Hughes RM, Motter KL, Robbins JM. (2002).** Level and extent of mercury contamination in Oregon, USA, lotic fish. *Environ. Toxicol. Chem.* 21 (10): 2157-2164.

Phillips D.J.H. (1976 a). The common mussel *M. edulis*. as an indicator of pollution by Zn, Cd, Pb y Cu. I. Effect of environmental variables on uptake of metals. *Mar. Biol.*, 38: 59-69.

Phillips D.J.H. (1990). Use of macroalgae and invertebrales as monitotors of metals level in estuaries and coastal waters. In R.W. Furness and P.S. Rainbow (Eds). Heavy metals in the Marine Environment : 81 – 99.CRC press, Florida.

Phillips, D.J.H. and Rainbow, P.S. (1989). Strategies of trace metal sequestration in aquatic organisms. *Marine Environmental Research* 28 (1-4): 207-210.

Pickard, G. (1971). Some physical oceanographic features of inlets of Chile. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 28 : 1077 – 1106.

Plassche, E. (1997). Environmental Risk assessment for Copper in the Netherlands. *Advances in Risk assessment of Copper in the Environment*. Pág. 49 – 55.

Pnuma (1980). Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. “El Estado del Medio Ambiente”.

Punt, A.G., Millward, G.E. and Jones, M.B. (1998). Uptake and depuration of ⁶³Ni by *Mytilus edulis*. *The Science of the Total Environment* 214: 71-78.

Quilodrán, B. (2002). “Síntesis y Caracterización de polímeros con capacidad extractivas de iones metálicos con impacto en el medio ambiente”. Tesis de Magíster en Ciencias, mención Química, Universidad de Concepción.

Quiroz, E., Alarcón, S., Jara, J. y Quilodrán, B. (2002). “Elementos Traza en Agua y Sedimentote la Bahía de Puerto Montt”. VI Encuentro de Química Analítica y Ambiental.

Quiroz, E., Zúñiga, M. E., Jara, J. y Paredes M.T. (1997). “Determinación de Metales Pesados en Moluscos y Crustáceos mediante Análisis Electrotérmico”. XXII Jornadas Chilenas de Química.

Rainbow, P.S. (1990). Trace metal concentrations in a Hong Kong penaeid prawn, *Metapenaeopsis palmensis* (Haswell). In: Morton, B., (Ed.) The marine Flora and Fauna of Hong Kong and Southern China, pp. 1221-1228. Hong Kong: Hong Kong University Press Reinfelder.

Reinfelder, J.R., Wang, W.X., Luoma, S.N. and Fisher, N.S. (1997). Assimilation

Riget F, Dietz R. (2000). Temporal trends of cadmium and mercury in Greenland marine biota. *Sci. Total Environ* 245: 29-60.

Riisgard HU, T Kiorbe, F Mohlenberg, I Draback and P Pfeiffer Madsen. (1985). Accumulation, elimination and chemical speciation of mercury in the bivalves *Mytilus edulis* and *Macoma balthica* *Marine Biology*, 86 : 55 -62.

Roman, G., Rudolph, A y Ahumada, R (1994). Estudios estacionales de toxicidad por cadmio en *Choromytilus chorus* (Molina 1972). *Bol. Soc. Bol. Concepción*, 65: 23-30

Rozas, H. (2001). Estudio de la Contaminación por Metales Pesados en la Cuenca del Llobregat. Tesis Doctoral. Instituto de Ingeniería minera y Recursos Naturales. Universidad Politécnica de Catalunya.

Salomons, W., Kerdijk, H., Van Pagee, H., Klomp, R. and Schreur, A. (1988). Behaviour and Impact Assessment of Heavy Metals in Estuarine and Coastal Zones. En: U. Seeliger, L. De Lacerda, S. Patchineelam (Eds) *Metals in Coastal Environments of Latin America*: 157 – 198.

Savari, A., Lockwood, A. P. y Sheader M. (1991). Effects of Season and (age) on Heavy Metal Concentrations Cockle (*Cerastoderma edule* (L.)) from Southampton Water. *J. Moll. Stud.*, vol. 57: 45-57.

Seki, T. y Hiramio, Y. (2002). On line preconcentration and determination of traces of Lead in River-water and Seawater by Flow Injection-Flame Atomic Absorption Spectrometry and ICPMass Spectrometry. *Analytical Sciences* 18: 351-354.

Sharp GJ, Samant & OC Vaidya (1988). Selected metal levels of commercially valuable seaweeds adjacent to and distant from point sources of contamination in Nova Scotia and New Brunswick. *Bulletin Environmental Contamination Toxicology*, 40: 724 – 730.

Shugart, L. R. (1994). Biological Monitoring. En: Renzoni, Mattei, Lari and Fossi (Eds.) *Contaminants in the Environment* : 29 – 36. CRC Press.

Snowden, R. and Wheeler, B. (1993). Iron toxicity to fen plant species. *Journal of Ecology* 81: 35-46.46

Snowden, R. and Wheeler, B.D. (1995). Chemical changes in selected wetland plant species with increasing Fe supply, with specific reference to root precipitates and Fe tolerance. *New Phytologist*. 131 : 503-520.

Soto, M. (2001). Biodisponibilidad de Metales Pesados (Cd, Cu y Pb) en Sedimentos Marinos Superficiales Procedentes de las Principales Zonas Ostrícolas del Estado de Sonora. Tesis, Escuela de Ingeniería Química. Universidad de Sonora. Spectrometry (ICP-EAS). *FreseniusJ. Anal. Chem.* 348, 390-395.

Spiro, T. (2004). Química Medioambiental. 2ª. Ed. Pearson Educación, Madrid. 504pp.

- Stokes, P. (1988).** Nickel in aquatic systems. In: Sigel, H. and Sigel, A., (Eds.) Nickel and its role in biology, 10 edn. pp. 31-46. United States of America: Marcel Dekker, Inc.
- Swaileh KM, Adelung D. (1994).** Levels of trace metals and effects of body size on metal content and concentration in *Arctica islandica* L. (Mollusca, Bivalvia) from kiel Bay, Western Baltic. *Mar. Pollut. Bull.* 28 (8): 500-505.
- Talbot, V. (1985).** Relationship Between Cadmium Concentrations in Seawater and Those in the Mussel *Mytilus edulis*. *Marine Biology*, 85 : 51 – 54.
- Talbot, V. (1987).** Relationship Between Lead Concentrations in Seawater and Mussel *Mytilus edulis* : a Water Quality Criterion. *Marine Biology*, 94 : 557 – 560.
- The Royal Society. (1979).** The Effects of Marine Pollution Some Research Needs. A Memorandum: 5 – 78.
- Thomson, J. D. (1982).** Metal Concentration Changes in Growing Pacific Oyster, *Crassostrea gigas*, Cultivated in Tasmania, Australia. *Marine Biology*, 67: 135-142.
- Vélez D, Montora R. (1998).** Arsenic speciation in manufactured seafood products. *J. Food Prot.* 61 (9): 1240-1245.
- Villalobos, S. (1997).** Distribución espacial y temporal de metales traza en los sedimentos del sistema estuarial Valdivia. Tesis, Escuela de Biología Marina, Facultad de Ciencias. Universidad Austral de Chile. 41 pp.
- Vink, R., Behrendt, H. and Salomons, W. (1999).** Development of the heavy metal pollution trends in several European rivers: an analysis of point diffuse sources. *Water Science Technology* 39(12), 215-223.
- Voegborlo, R. B., El-Methnani, A. M., Abedin, M. Z. (1999).** «Mercury, cadmium and lead content of canned tunafish». *Food Chemistry* 67, 341-345.

Waldichuk, M. (1974). Some Biological concerns in heavy metals pollution. En : Verenberg, F. J. & W. B. Verenberg (Eds.) Pollution and physiology of marine organisms : 1 – 45. Academic Press, New York.

Wang, W.X. (2001). Comparison of metal uptake rate and absorption efficiency in marine bivalves. *Environmental Toxicology and Chemistry* 20 (6): 1367-1373.

Wang, W.X. (2003). Metal bioaccumulation in bivalve mollusks: recent progress. In: Villalba, A., Reguera, B., Romalde, J.L. and Beiras, R., (Eds.) Proceedings of the IV International Conference on Molluscan Shellfish Safety. Santiago de Compostela, Spain. 2002, pp. 503-520. Consellería de Pesca e Asuntos Marítimos, Xunta de Galicia. IOC of Unesco.

Wang, W.X. and Fisher, N.S. (1996a). Assimilation of trace elements and carbon by the mussel *Mytilus edulis*: Effects of food composition. *Limnology and Oceanography* 41 (2): 197-207.

Wang, W.X. and Fisher, N.S. (1996b). Assimilation of trace elements by the mussel *Mytilus edulis*: effects of diatom chemical composition. *Marine Biology* 125: 715 - 724.

Wang, W.X. and Guo, L. (2000). Bioavailability of colloid-bound Cd, Cr, and Zn to marine plankton. *Marine Ecology Progress Series* 202: 41-49.

Wang, W.X., Fisher, N.S. and Luoma, S.N. (1995). Assimilation of trace elements ingested by the mussel *Mytilus edulis*: effects of algal food abundance. *Marine Ecology Progress Series* 129: 165-176.

Wany WX. (2002). Interactions of trace metals and different marine food chains. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 243: 295-309.

White, S. L. and Rainbow, P. S. (1987). Heavy metal concentration and size effects in the mesopelagic decapods crustacean *Systellaspis debilis*, *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 37: 147.

Zarogian, G. E. (1980). *Crassostrea virginica* as an Indicator of Cadmium Pollution. *Marine Biology*, 58: 275-284.

ANEXO 1

Ubicación geográfica del lugar muestreado

Figura 1: Ubicación de la zona de muestreo (Hueihue: (Latitud: 41°54'55S
Longitud: 73°29'24 W) dentro del país.

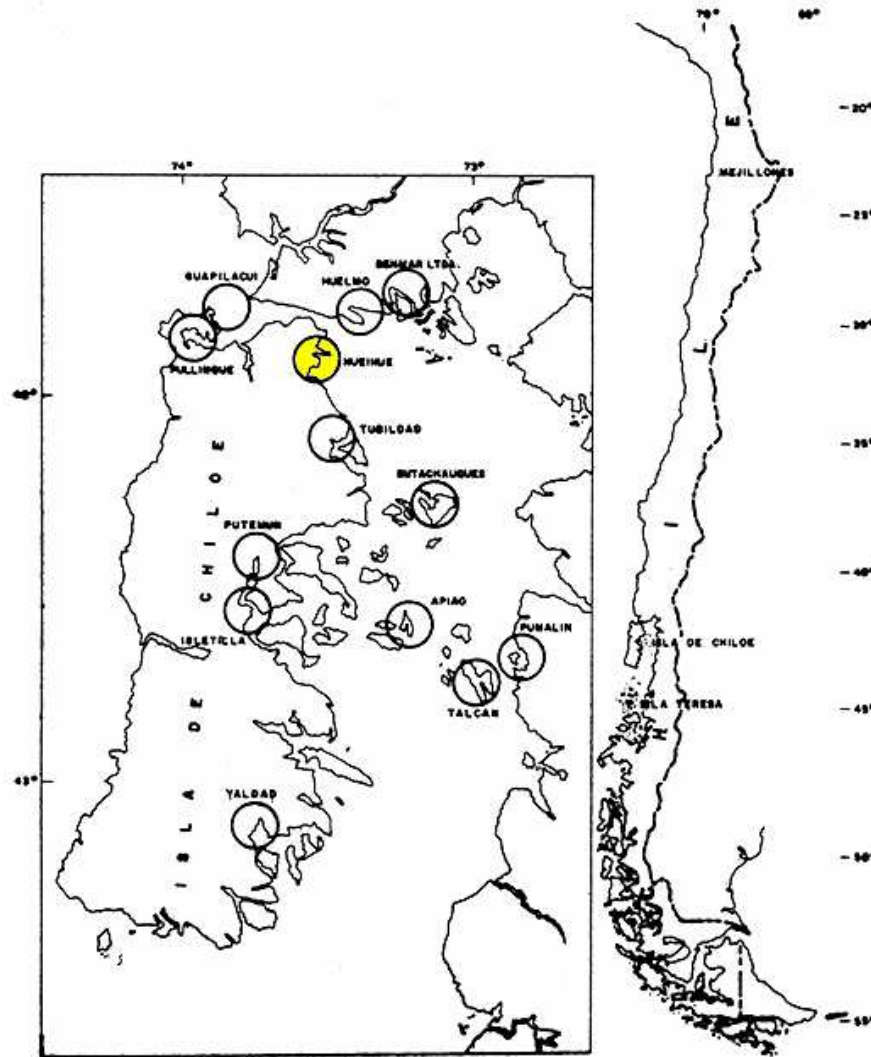


Figura 2: Ubicación de la zona de muestreo, Hueihue.



Figura 3: Fotografías de lugar de extracción.





ANEXO 2

Metodología de tratamiento de las muestras estacionales

2.1 Procedimiento Analítico de Digestión Ácida en Horno Microondas.

Una vez pesados 0,5 gramos de las distintas especies de bivalvos en los vasos del horno microondas Millestone modelo Ethos 1600, se procede a adicionar a cada uno de los vasos 6 mL de HNO_3 concentrado y 1 mL de H_2O_2 al 30 %, posteriormente se cierra cada uno de los vasos, y son colocados en el horno microondas, luego se digita el programa diseñado para la digestión de de bivalvos, según lo especificado por el manual de procedimientos.

STEP	TIME	POWER	PRESS	TEMP1	TEMP2
1	00:01:00	250	0	0	0
2	00:01:00	0	0	0	0
3	00:05:00	250	0	0	0
4	00:05:00	400	0	0	0
5	00:05:00	650	0	0	0

RCTRL=OFF	TAT=OFF	TWIST=ON	VENT=00:05=00
-----------	---------	----------	---------------

N°	Sample name	Sample Type	Tara	Weight	Dil.vol	Dil.Fart or
1	Oyster tissue	Food-feed		0,5000		

N°	Reagents
1	6 mL de HNO_3 65% y 1 mL de H_2O_2 30%

2.1.1 Programa utilizado para el lavado de los vasos del horno microondas.

Para el lavado de cada uno de los vasos del microondas se deben adicionar 4 mL de HNO₃ concentrado. Luego se introducen en el Horno Microondas y se digita el programa de lavado.

Step	Time	Power	Press	Temp 1	Temp 2
1	00:05:00	240	0	0	0
2	00:08:00	260	0	0	0

N°	Reagents
1	4ml de HNO ₃ 65%

2.1.2 Análisis a la llama.

Preparación de los estándares de Cd, Zn, Cu, Fe, Mn, Ni y Pb

Para la determinación de la concentración de los elementos Cadmio, Zinc, Cobre, Hierro, Manganeso, Níquel y Plomo en las distintas especies de bivalvos se procedió a la preparación de tres estándares, para cada uno de los elementos.

Las concentraciones de cada uno de los estándares se resumen en la siguiente tabla:

C. estándar (mg/L)	Cd	Zn	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb
1	0,05	0,05	0,5	1	0,5	0,5	0,5
2	0,1	0,1	1	2,5	1	1	1,0
3	0,25	1	2	5	2	2	2,0

Todos los estándares de estos elementos se prepararon a partir de estándares certificados, cuya concentración es de 1000 ppm.

El equipo de Espectrofotometría de Absorción Atómica (AAS), una vez leídas las muestras entrega la concentración corregida de cada una de ellas. Para que este proceso se pueda realizar, es necesario que antes de proceder a la lectura se realice el ingreso de los siguientes datos: nombre, peso y volumen de cada una de las muestras; así como la concentración de cada uno de los estándares preparados para la curva de calibración.

La Técnica de Absorción Atómica, consiste en atomizar una muestra líquida previamente tratada, donde el proceso de atomización se realiza con una llama o con un horno. Una vez que los elementos se encuentran en estado atómico, se hace pasar a través de ellos una radiación de la longitud de onda correspondiente al elemento que se desea cuantificar, se efectúa un balance energético entre la radiación emitida y la radiación recibida, produciéndose una disminución energética directamente proporcional al número de átomos presentes, lo que se relaciona finalmente con la concentración del elemento en la muestra, mediante la ecuación de Lambert - Beer.

Las longitudes de onda para cada metal en estudio se resumen en la siguiente tabla:

Metal	Longitud de onda (nm)
Níquel	232.0
Zinc	213.9
Cadmio	228.8
Cobre	324.8
Hierro	248.3
Manganeso	279.5
Plomo	217.0
Arsénico	193.7

2.1.3 Análisis de arsénico utilizando la Técnica de Generación de Hidruros.

2.1.3.1 Preparación del estándar de Arsénico (As) de 1 ppm.

Se miden 0,75 mL de HNO_3 concentrado en un matraz, se le agregan 5 mL de As 10 ppm y posteriormente se afora a 50 mL con agua desionizada.

2.1.3.2 Solución de Yoduro de Potasio al 20%.

Se pesan 20 g de yoduro de potasio y se colocan en un matraz de 100 mL se afora con agua desionizada.

2.1.3.3 Solución de Borhidruro de Sodio al 3% e Hidróxido de Sodio al 1%.

Se pesan 5 grs. de hidróxido de sodio y 15 g de borhidruro en un vaso precipitado, se coloca la mezcla en un poco de agua desionizada en el sonicador, para que la mezcla se disuelva completamente. Se filtra con papel Whatman y se coloca el filtrado en un matraz aforado de 500 mL, posteriormente se afora con agua desionizada.

2.1.3.4 Solución de Ácido Clorhídrico 2,0%.

Se utiliza para la lectura de Arsénico. Se prepara midiendo 20 mL de HCl concentrado en una probeta convenientemente lavada y cebada, los que luego se vierten en un matraz aforado de 1 L se llena hasta el aforo con agua desionizada y se agita.

2.1.3.5 Análisis de Muestras con Generador de Hidruros para Determinación de Arsénico.

En cada uno de los vasos de reacción, se colocan 10 mL de HCl 2,0%, se agregan 200 µL de Yoduro de Potasio al 20% y luego se adiciona un volumen de la muestra para medir Arsénico en *Mytilus chilensis*, *Aulacomya ater* y *Ostrea chilensis*. El sistema es colocado luego en el equipo. El borhidruro es inyectado durante 9 segundos al vaso de reacción. Se lee la absorbancia del blanco (vaso con todos los reactivos menos la muestra), posteriormente se lee un vaso con el estándar y finalmente todas las muestras.

Para determinar la concentración de cada una de las muestras analizadas se procede a la utilización de la siguiente ecuación:

$$C_m = \frac{V_{st} \times C_{st} \times A_m \times V_d}{A_{st} \times V_m \times W_m}$$

C_m = concentración de la muestra

C_{st} = concentración del estándar

A_m = absorbancia de la muestra

V_d = Volumen de digestión

A_{st} = absorbancia del estándar

V_m = volumen de la muestra utilizado para la lectura

V_{st} = Volumen del estándar

W_m = Masa de la muestra

ANEXO 3

Metodología de tratamiento de las muestras estacionales (chicas) en Horno de Grafito.

3.1 Análisis en Horno de Grafito para muestra pequeñas de los bivalvos en estudios, para determinar Cu, Ni, Pb y Cd.

3.1.1 Reactivos:

Los reactivos utilizados en el tratamiento de las muestras y preparación de los estándares fueron ultra puros. Y el agua utilizada fue desionizada (18 mΩcm).

- Ácido Nítrico (HNO₃), Suprapur, Merck, d = 1,4 g cm⁻¹
- APDC (Amonio Pirrolidona Ditiocarbaminato)
- DDDC (Dietilamonio-N,N-dietilditiocarbaminato)
- N-hexano, Merck, 99% pureza.
- Solución de amonio (25%), Merck.

3.1.2 Preparación de los estándares:

Solución mixta de Ni/Cu (30 ppb y 15 ppb, respectivamente):

Se tomaron 150 µL de solución de Ni⁺² 10 ppm, más 75 µL de solución de Cu⁺² 10 ppm, junto con 5 mL de HNO₃ Suprapur y se completa a volumen final de 50 mL con agua desionizada.

Solución mixta de Cd/Pb (5 ppb y 15 ppb, respectivamente):

Se prepara usando 1250 µL de Cd⁺² 200ppb y Pb 600 ppb, mas 5 mL de HNO₃ Suprapur, aforando a 50 mL con agua desionizada.

El solvente se prepara con 5 ml de HNO₃, aforando a 50 mL con agua desionizada.

3.2 Preparación de soluciones para el análisis químico para Horno Grafito

3.2.1.-Buffer citrato

Se disuelven 62,5 g de Diamonio hidrógeno citrato en 125 mL de agua desionizada, adicionando 60 mL de solución de amonio, calentando a alrededor de 45° C y completando a 250 mL con agua desionizada. Aparte se disuelven 2 g de Amonio Pirrolidona Ditiocarbaminato (APDC) y 2 g de Dietilamonio-N,N- dietilditiocarbaminato (DDDC) en la solución buffer citrato (moderado calentamiento) y completar a 100 mL de solución. Finalmente, se realiza un procedimiento de limpieza de la solución, por tres veces, agitando con CCl_4 por 20 minutos y antes de separar en un embudo de decantación de Teflón esperar 20 minutos.

3.2.2 Preparación del modificador de matriz para medición de Cd y Pb en Horno de Grafito.

Reactivos: 2,5 mL $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$, 2,5 mL HNO_3 , 1,0 mL de ácido bórico.

Se agregan 5 mL de solución $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ en HNO_3 15 %, luego se agregan 5 mL de ácido nítrico monohidratado (10%) y se agrega 2 mL de solución saturada de ácido bórico Suprapur (alrededor de 50 g/L).

ANEXO 4

TABLAS

4.1 Tabla de referencia

Tabla 4.1.1: Concentraciones límites aceptadas por diferentes agencias nacionales e internacionales, y valores promedios reportados por la FDA (en Estados Unidos), para concentraciones de metales pesados para invertebrados de importancia comercial.

Los datos están expresados en ppm = $\mu\text{g/g}$ = mg/Kg. (1) De Gregori et al. (1996), (2) Ahumada (1995), (3) FDA (1993 a, b, c), (4) Talbot (1985,1987), (5) Izaguirre et al. (1992), (6) Juras (1998).

Metal	Chile (1)	Epa (2)	FDA (3)	ANHMRC	CFDD (6)	Inglaterra (5)
Cadmio	1	1,9	0,1 a 2,0	2 (4)		
Cobre	10	13		10 (5)	100	50
Níquel		4,4	0,2 a 2,2			
Plomo		1	0,1 a 0,8	2,5 (4)	10	

Tabla 4.1.2: Concentraciones de referencia para metales establecida por la Environmental Protection Agency.

Metales	Agua de mar $\mu\text{g/L}$	Sedimento mg/Kg	Organismos mg/Kg
Cadmio	9.30	1.60	1.9
Cobre	2.90	29.30	13.0
Cromo	50.0	104.70	0.1
Mercurio	0.025		0.4
Níquel	8.3	77.27	4.4
Plomo	8.5	11.11	1.0
Zinc	86.0	75.90	75.0

Tabla 4.1.3: Concentraciones de metales traza reportadas por varios autores en Chile.

Las concentraciones están expresadas en ppm = mug/g = mg/ Kg.

Autor	Especie	Localización	Cobre	Plomo
Adriazola	<i>Mytilus chilensis</i>	Corral		<1
Ahumada	<i>Tagelus dombeii</i>	San Vicente	7,6 a 8,8	0,3 a 1
	<i>Ch. Chorus</i>		13	1
Boré	<i>Aulacomia ater</i>	Iquique Chañaral Coquimbo	2,5 aprox. máx. 22.54 1 aprox.	
Chiang	<i>P.purpurate</i>	Valparaíso	27,77 a71,39	4,69 a 10,32
De Gregori	<i>Tagelus dombeii</i>	Corral	2,9	
Pinochet	<i>Tagelus dombeii</i>	Corral	2,2 a 3,6	
	<i>Semelle solida</i>	Corral	4,8 a 11	

Fuente: Quiroz *et al.*, y Paredes, 1997.

4.2 Tablas: Concentración de Cadmio.

4.2.1 Tablas de concentración de cadmio (mug/g) por tamaño.

Cadmio	verano	otoño	invierno	primavera
Especies (G)				
Ostra	2,9	2,5	5,7	1,9
Chorito	1,1	0,32	0,9	0,8
Cholga	1,2	0,36	0,9	2

Cadmio	verano	otoño	invierno	primavera
Especies (M)				
Ostra	3,24	1,7	5	2
Chorito	0,85	0,31	0,7	0,35
Cholga	1,43	0,36	0,85	0,9

Cadmio	verano	otoño	primavera
Especies (ch)			
Ostra	3,4	1,8	5,9
chorito	0,42	0,7	2,9
Cholga	0,9	0,9	1,1

4.2.2 Tablas de concentración de Cadmio (mug/g) por estación del año.

Cadmio Especies	verano	otoño	invierno	primavera
Ostra G	2,9	2,5	5,7	1,9
Ostra M	3,24	1,7	5	2
Ostra Ch	3,4	1,8		5,9
Chorito G	1,9	0,32	0,9	0,8
Chorito M	0,85	0,31	0,7	0,35
chorito Ch	0,42	0,7		2,9
Cholga G	1,2	0,36	0,9	2
Cholga M	1,43	0,36	0,85	0,9
Cholga Ch	0,9	0,9		1,1

4.2.3 Tablas de Bioacumulación de Cadmio (mug/g) en diferentes periodos de maduración.

2 años	Cd	6 meses	Cd
Especies		Especies	
Ostra 1 (9,7)	1,07	Ostra 1 (8,6)	1,9
Ostra 2 (9,1)	0,6	Ostra 2 (3,4)	1,2
Ostra 3 (9,9)	2	Ostra 3 (3,4)	1,28
Ostra 4 (6,3)	1,84	Ostra 4 (3,2)	1,3

1 año	Cd	3 meses	Cd
Especies		Especies	
Chorito 1(4,6)	1,49	Chorito 1(2,9)	0,39
Chorito 2(4,5)	0,48	Chorito 2(2,7)	0,34
Chorito 3(3,9)	0,61	Chorito 3(2,9)	0,37
Chorito 4(4,1)	0,39	Chorito 4(3,0)	0,39

1 año	Cd	3 meses	Cd
Especies		Especies	
Cholga 1(7,6)	0,57	Cholga 1(6,8)	0,63
Cholga 2(8,9)	0,41	Cholga 2(5,3)	0,45
Choga 3 (11)	0,54	Cholga 3(3,8)	0,38
Cholga 4 (10)	0,55	Cholga 4(3,8)	0,59

4.3 Tablas comparativas de Cadmio con otros metales.

4.3.1 Tabla comparativa promedio de Verano.

(<) valores bajo el límite de cuantificación del equipo.

Muestreo	Peso(g)	METALES (mug/g)							
		Pb	Cd	Cu	Ni	Mn	Zn	Fe	As
Ostra G	11,13	< 0,7	2,9	7,8	1,5	2,4	3,2	44	1,5
Ostra M	5,46	< 0,7	3,24	6	1,8	2,33	4,3	57,7	0,6
Ostra Ch	2,47	< 0,7	3,4	9,2	3,2	0,8	4,2	84	3
Chorito G	24,97	< 0,7	1,9	2,1	3,5	2,22	1,49	21	23
Chorito M	5,12	< 0,7	0,85	2,36	3,9	1,6	0,68	31	13
chorito Ch	2,98	< 0,7	0,42	2,4	5,4	0,15	1,22	54	16
Cholga G	48,51	< 0,7	1,2	2,8	5,5	1,8	1,3	30	9
Cholga M	24,67	< 0,7	1,43	1,7	5,7	1,8	0,9	28,85	5
Cholga Ch	13,78	< 0,7	0,9	2,1	4,6	3,78	0,72	28	4

4.3.2. Tabla comparativa promedio de Otoño.

(<) Valores bajo el límite de cuantificación del equipo.

Muestreo	Peso(g)	METALES(mug/g)							
		Pb	Cd	Cu	Ni	Mn	Zn	Fe	As
Ostra G	0,74	< 0,86	2,5	7,2	< 1,6	4,3	78	53,5	4
Ostra M	3,6	< 0,86	1,7	6	< 1,6	< 0,81	58	119	2,5
Ostra Ch	2,36		1,8	18	14				
Chorito G	4,4	< 0,86	0,32	1,3	< 1,6	< 0,81	26	45	2
Chorito M	3,1	< 0,86	0,31	1,7	< 1,6	< 0,81	24	24	2,5
chorito Ch	0,94		0,7	17	37				
Cholga G	6,6	< 0,86	0,36	1,2	15	1,9	19	74	3
Cholga M	3,5	< 0,86	0,36	1,3	< 1,6	1,5	17	47	2,1
Cholga C	0,5		0,9	20	20				

4.3.3 Tabla comparativa promedio de Invierno.

(<) Valores bajo el límite de cuantificación del equipo. ND (no determinado).

Muestreo		METALES (mug/g)							
Invierno	Peso(g)	Pb	Cd	Cu	Ni	Mn	Zn	Fe	As
Ostra G	4	< 0,68	5,7	8	2,4	1,9	254	34,5	1,6
Ostra M	2,47	< 0,68	5	9	1,75	2,5	126	13	1,8
Ostra Ch	1,3		ND	ND	ND				
Chorito G	5,6	< 0,68	0,9	1,35	1,9	1,8	43	15	3
Chorito M	2	< 0,68	0,7	1,1	1,8	1,7	25	18,5	2,5
chorito Ch	1,9		ND	ND	ND				
Cholga G	6,4	< 0,68	0,9	1,6	1,75	1,6	19	14	2,7
Cholga M	4	< 0,68	0,85	2	1,8	1,6	10,5	8	1,1
Cholga Ch	3,1		ND	ND	ND				

4.3.4 Tabla comparativa promedio de Primavera.

(<) Valores bajo el límite de cuantificación del equipo.

Muestreo		METALES (mug/g)							
Primavera	Peso(g)	Pb	Cd	Cu	Ni	Mn	Zn	Fe	As
Ostra G	3	< 0,66	1,9	6,8	< 1,84	1,97	87,5	13	1,2
Ostra M	2,5	< 0,66	2	9	< 1,84	2	85,5	21	1,1
Ostra Ch	2		5,9	15	6,4				
Chorito G	6,4	< 0,66	0,8	2,7	< 1,84	< 0,80	12,5	5	0,8
Chorito M	1,49	< 0,66	0,35	3,1	< 1,84	< 0,80	10,5	11,5	1,05
chorito Ch	1,5		2,9	14	5,1				
Cholga G	14,47	< 0,66	2	1,6	< 1,84	< 0,80	20	15	2,21
Cholga M	5,1	< 0,66	0,9	3	< 1,84	< 0,80	10	7	1,8
Cholga Ch	3		1,1	< 3	3				

4.4 Tabla de bioacumulación de los metales en distintos períodos de maduración.

4.4.1 Tabla comparativa de bioacumulación de los metales en distintos períodos de maduración.

(<) Valores bajo el límite de cuantificación del equipo.

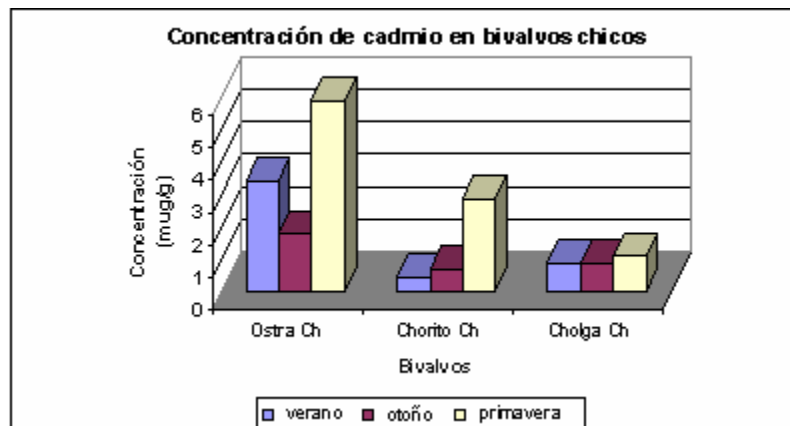
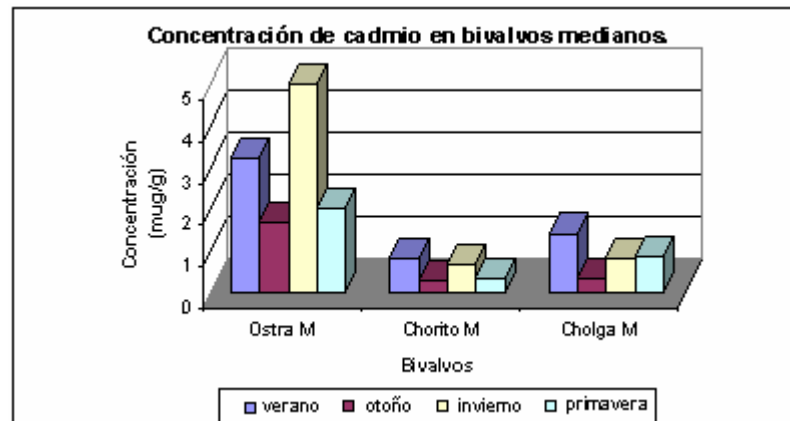
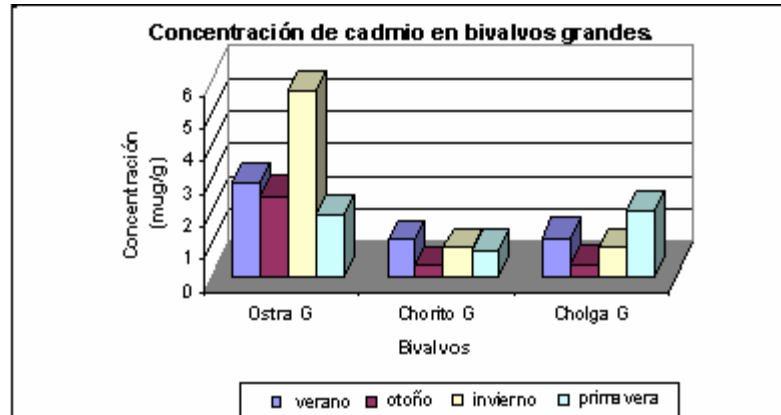
Madurez		METALES							
Especies (mug/g)	Peso (g)	Pb	Cd	Cu	Ni	Mn	Zn	Fe	As
Ostra 1 (2 año)	9,7	1,04	1,07	13,1	< 2,05	1,3	88	9	2,7
Ostra 2	9,08	1,47	0,6	5,6	< 2,05	1,9	60	14	3
Ostra 3	9,89	1,36	2	10,6	< 2,05	1,7	83	11	2,05
Ostra 4	6,3	1,4	1,84	20	< 2,05	1,3	85	7	2
Ostra 1 (6 meses)	8,58	1,1	1,7	11	< 2,05	1,1	81	8	1,7
Ostra 2	3,38	1,3	1,2	6	< 2,05	1,9	47	9	1,1
Ostra 3	3,4	1,1	1,28	8	< 2,05	0,9	60	9	1,5
Ostra 4	3,24	1,4	1,9	7	< 2,05	1,6	77	12	2
Chorito 1 (1 año)	4,56	< 0,72	1,49	1,5	< 2,05	< 0,9	47	4	1,6
Chorito 2	4,5	0,92	0,48	< 1,48	< 2,05	1,1	41	12	2,2
Chorito 3	3,95	0,9	0,61	< 1,48	< 2,05	2,13	29	20	3,5
Chorito 4	4,11	1,1	0,39	< 1,48	< 2,05	1,32	34	14	2,1
Chorito 1 (3 meses)	2,87	0,78	0,39	< 1,48	< 2,05	2,04	34	8	2,2
Chorito 2	2,98	< 0,72	0,34	< 1,48	< 2,05	1,6	21	6	1,6
Chorito 3	2,74	< 0,72	0,37	< 1,48	< 2,05	5,3	44	24	3
Chorito 4	3,01	< 0,72	0,39	< 1,48	< 2,05	1,5	1,7	34	3
Cholga 1 (1 año)	7,61	< 0,72	0,57	< 1,48	< 2,05	1,3	0,9	15	4
Cholga 2	8,91	1,1	0,41	< 1,48	< 2,05	1,2	1,3	22	2,4
Cholga 3	11,6	1,18	0,54	< 1,48	< 2,05	1,2	0,96	17	3,7
Cholga 4	10,33	1,22	0,55	< 1,48	< 2,05	1,2	1,49	24	5,15
Cholga 1 (3 meses)	6,78	1,06	0,63	< 1,48	< 2,05	< 0,9	1,13	24	6,5
Cholga 2	3,8	1,1	0,45	< 1,48	< 2,05	< 0,9	0,87	11	3,05
Cholga 3	5,26	1,16	0,38	< 1,48	< 2,05	< 0,9	1,8	6	4,1
Cholga 4	3,84	1,2	0,59	< 1,48	< 2,05	2,8	1,3	17	4,2

ANEXO 5

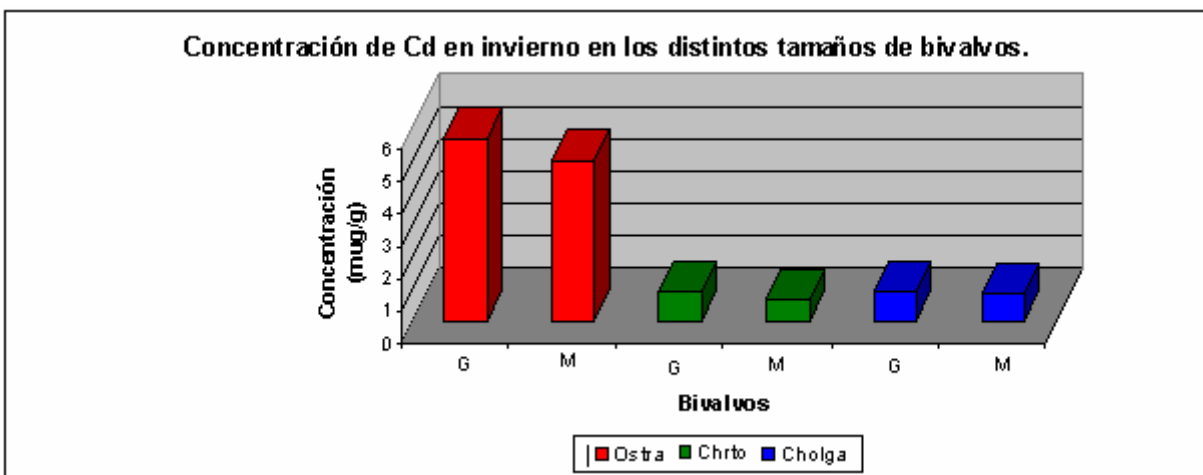
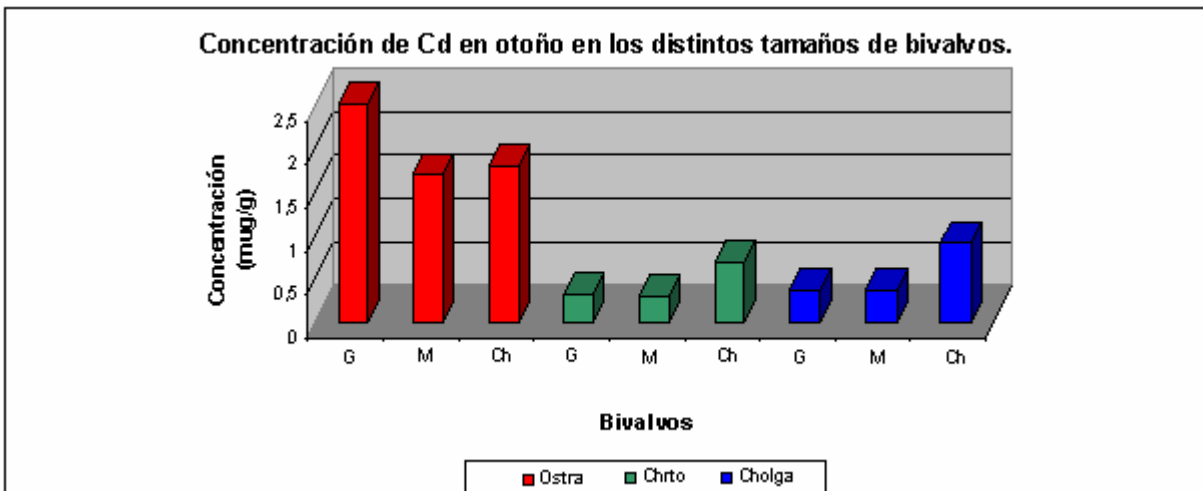
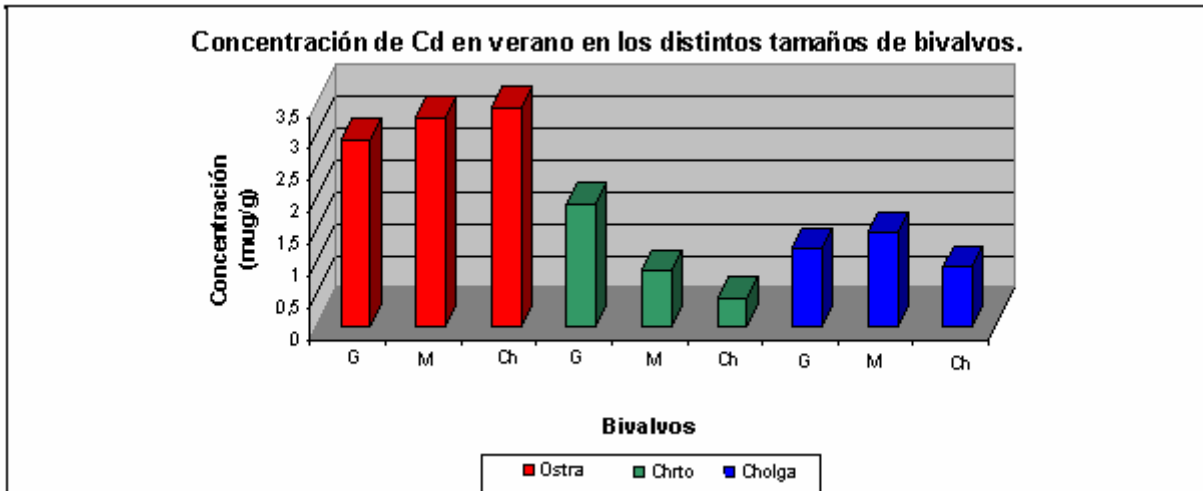
Gráficos

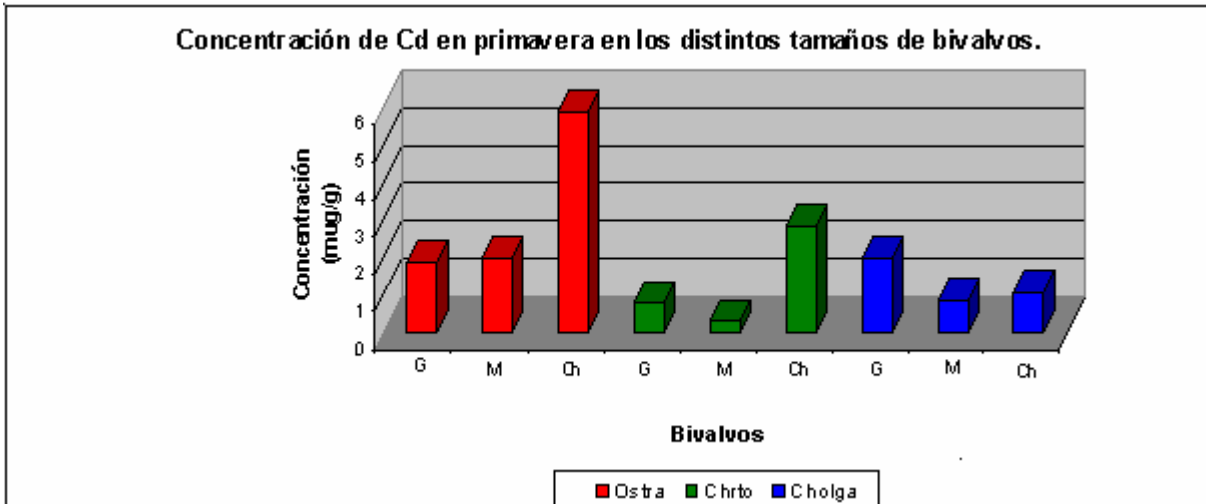
5.1 Gráficos: Concentración de Cadmio

5.1.1 Gráficos de concentración de cadmio en bivalvos por tamaño.

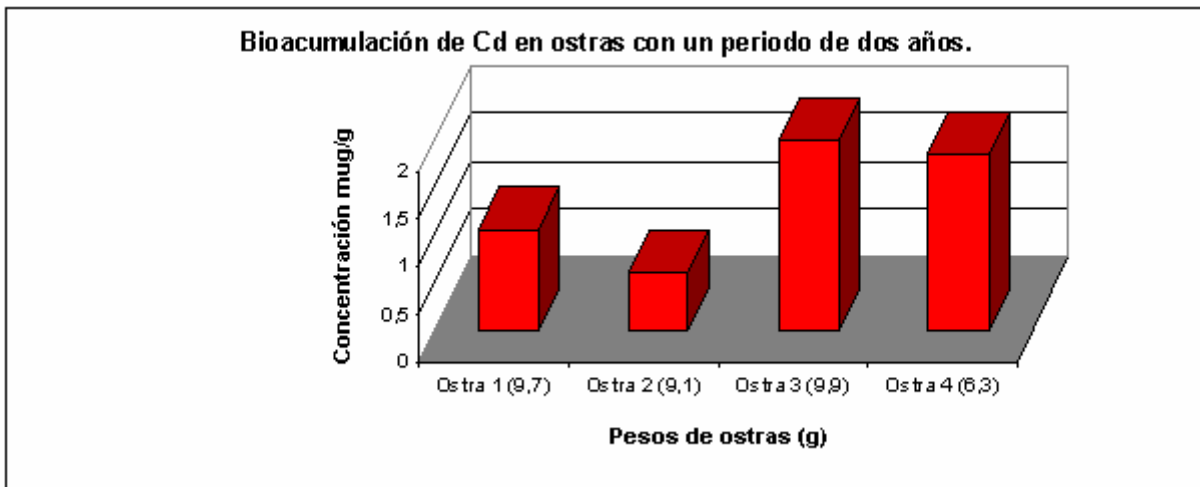


5.1.2 Gráficos de concentración de cadmio por estación.

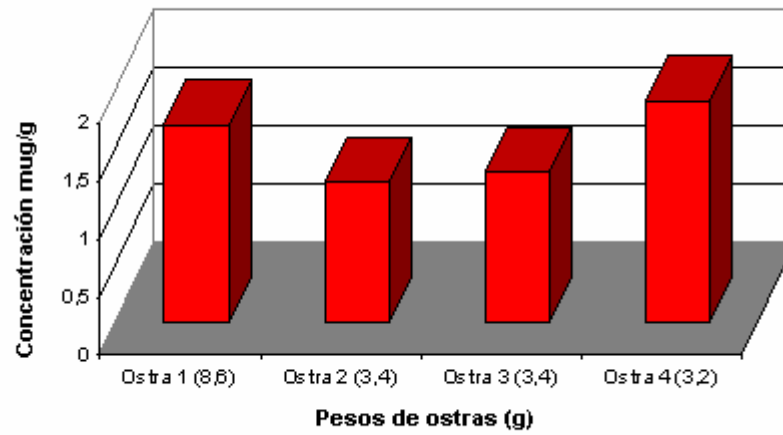




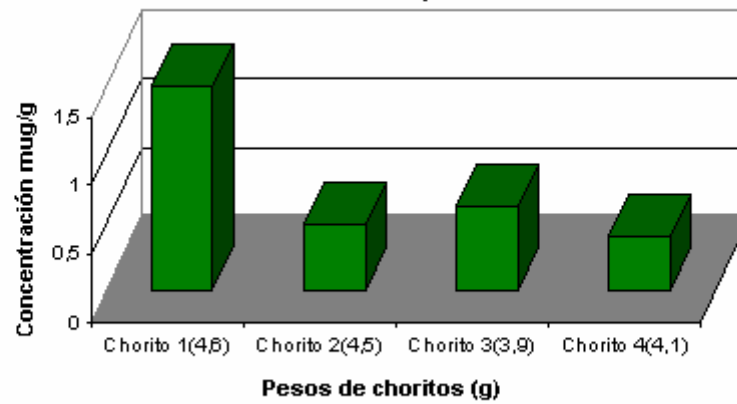
5.1.3 Gráficos de bioacumulación de Cadmio, en distintos períodos de maduración de bivalvos.



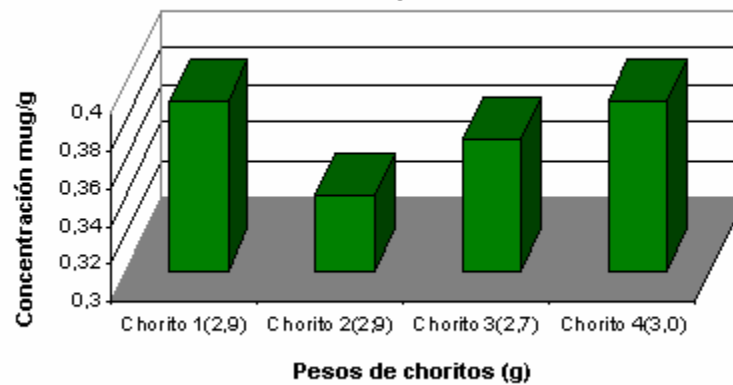
Bioacumulación de Cd en ostras con un periodo de seis meses.

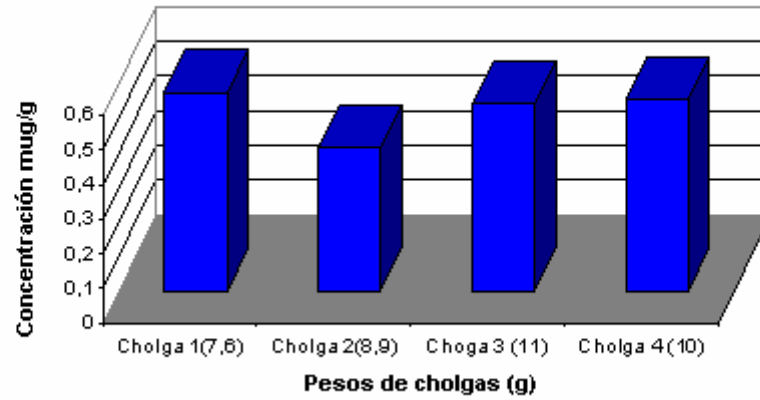
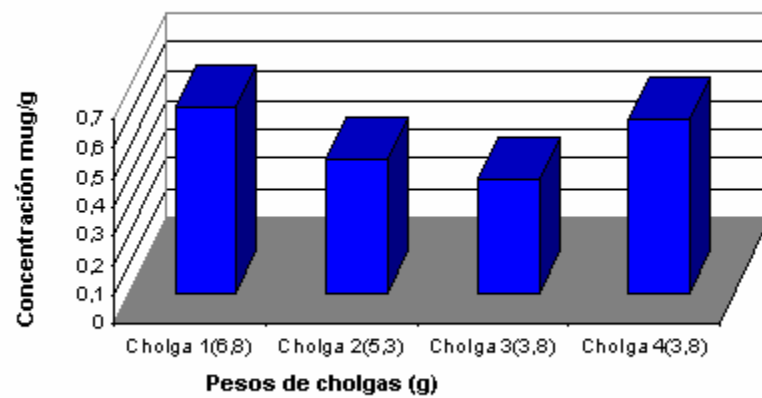


Bioacumulación de Cd en choritos con un periodo de un año.



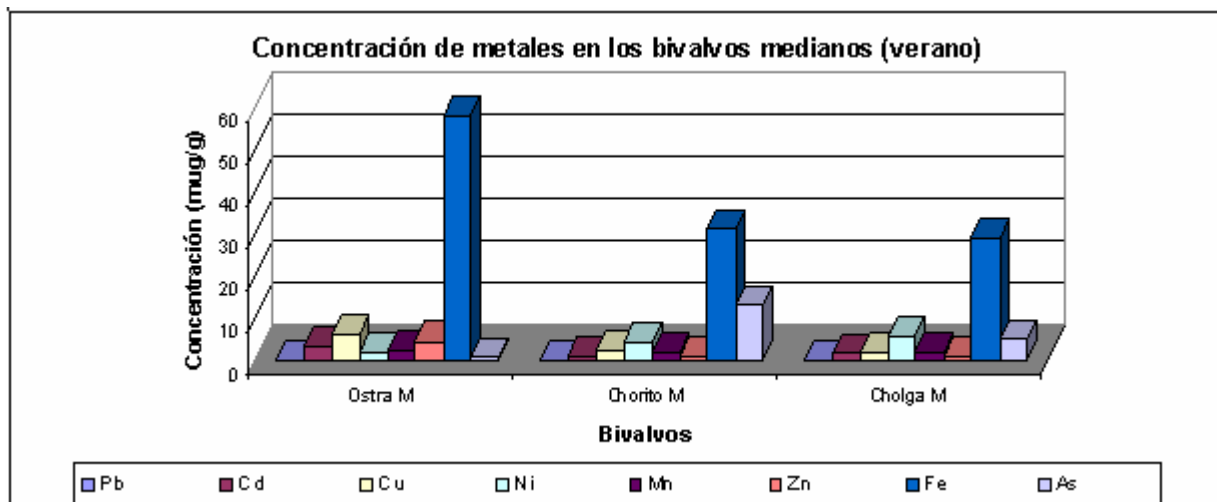
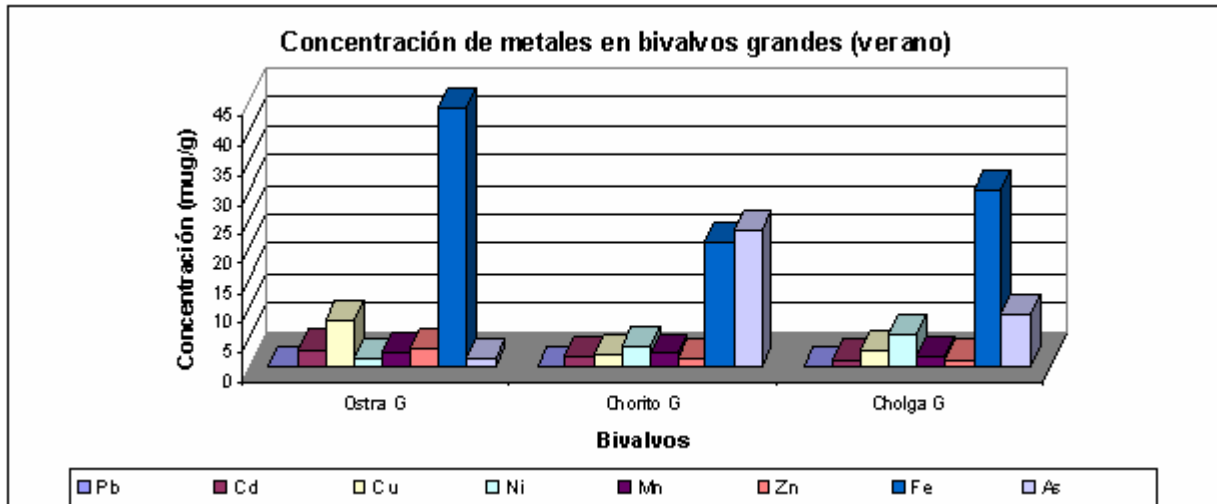
Bioacumulación de Cd en choritos con un periodo de tres meses.

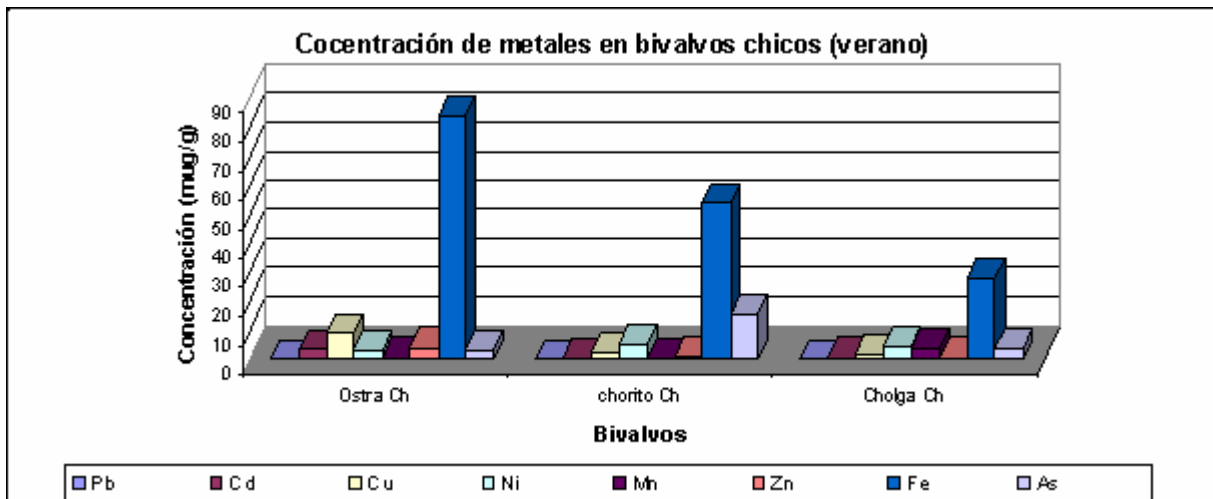


Bioacumulación de Cd en chogas con un periodo de un año.**Bioacumulación de Cd en chogas con un periodo de tres meses.**

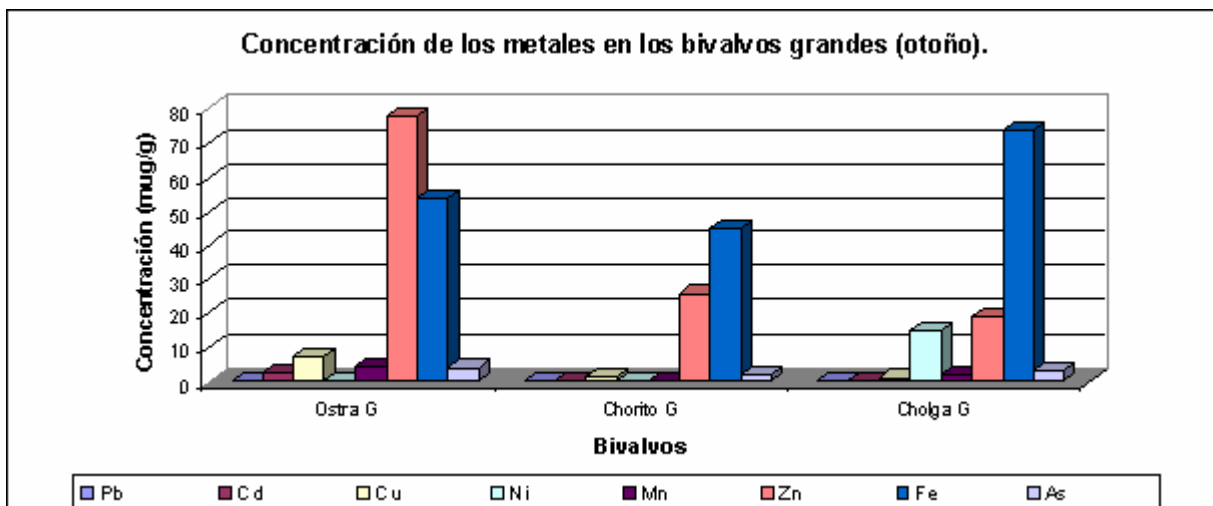
5.2 Gráficos comparativos de Cadmio con otros metales.

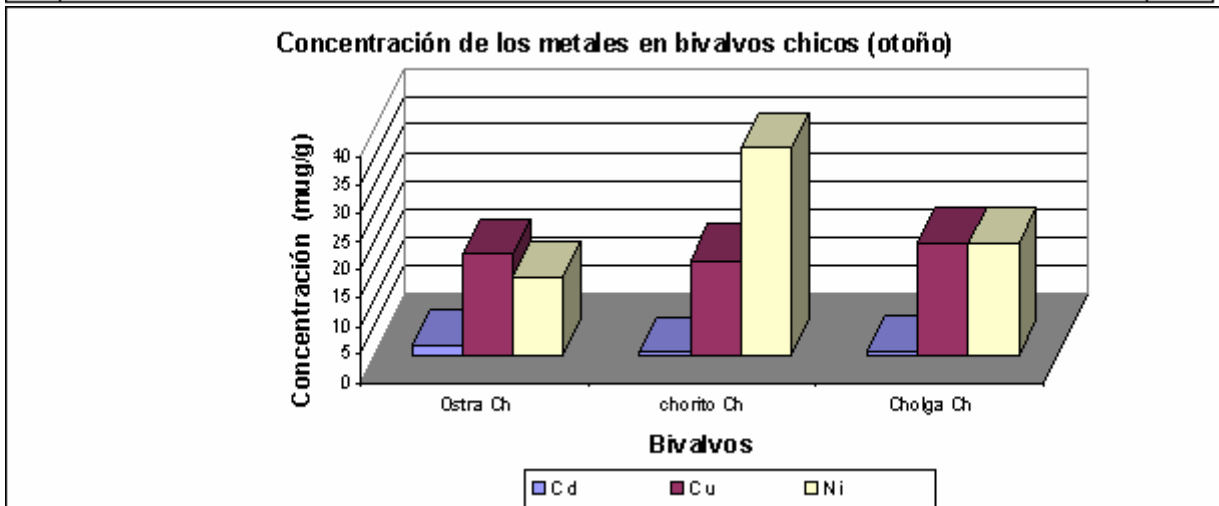
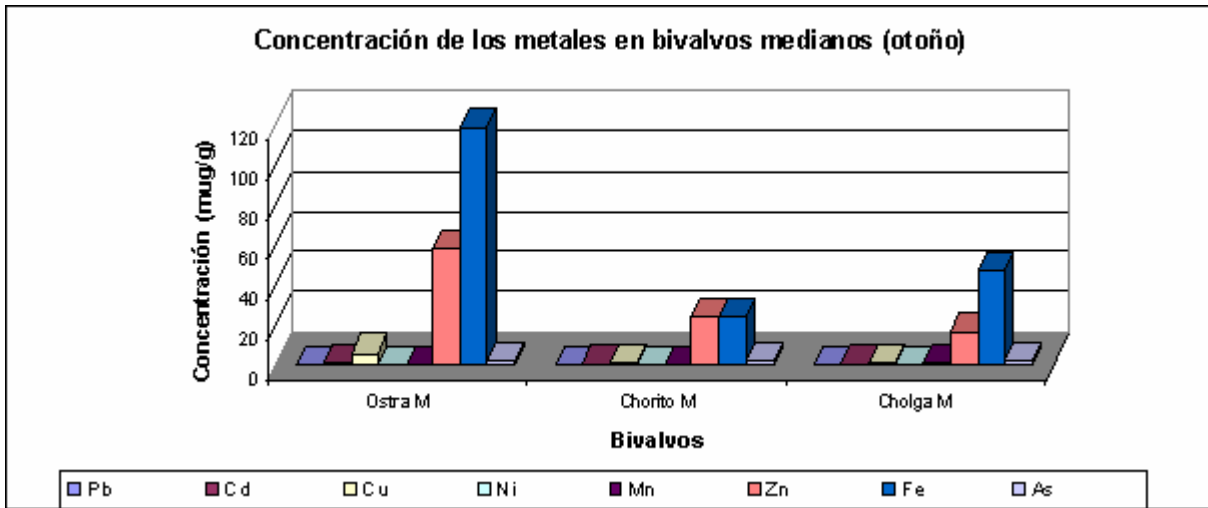
5.2.1 Gráficos comparando Cadmio con otros metales en verano.



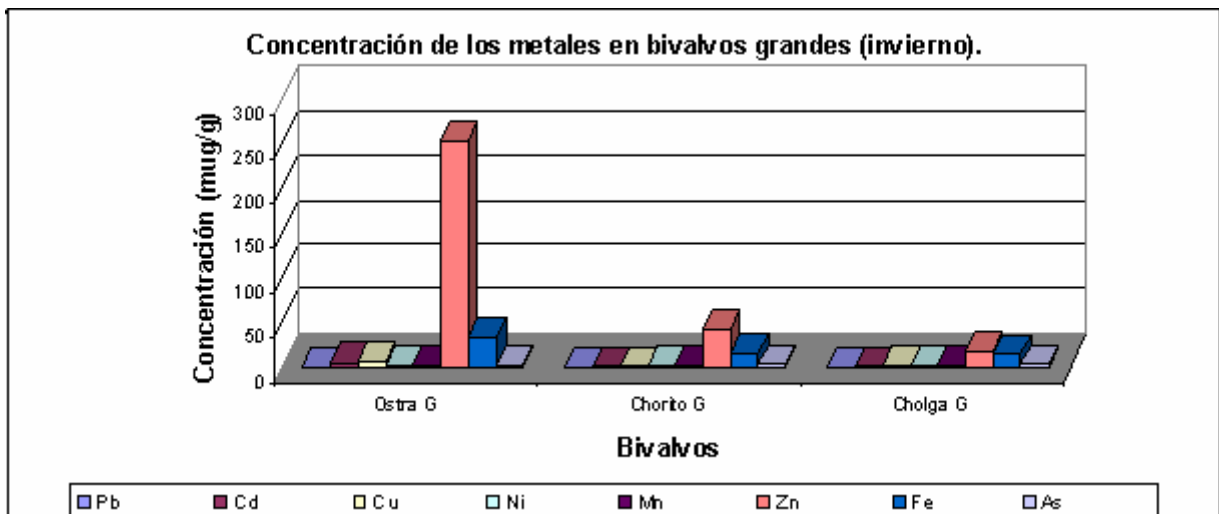


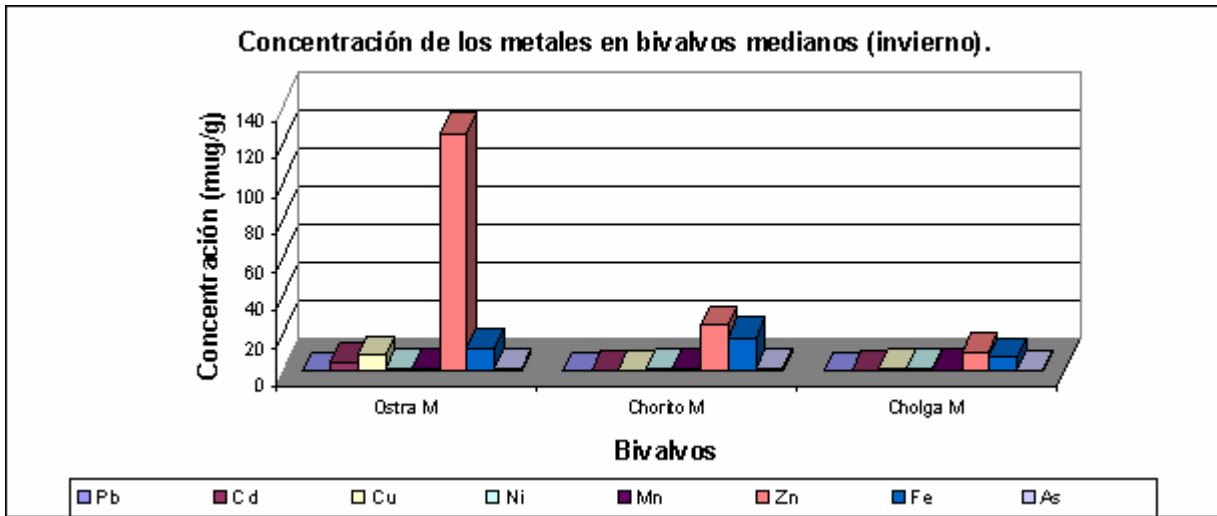
5.2.2 Gráficos comparando Cadmio con otros metales en otoño.



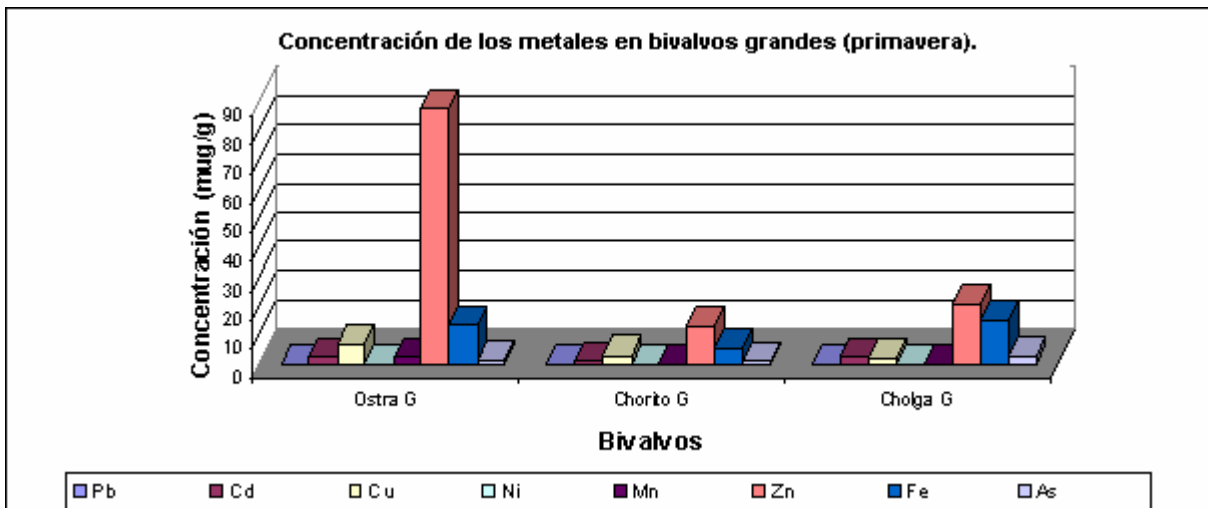


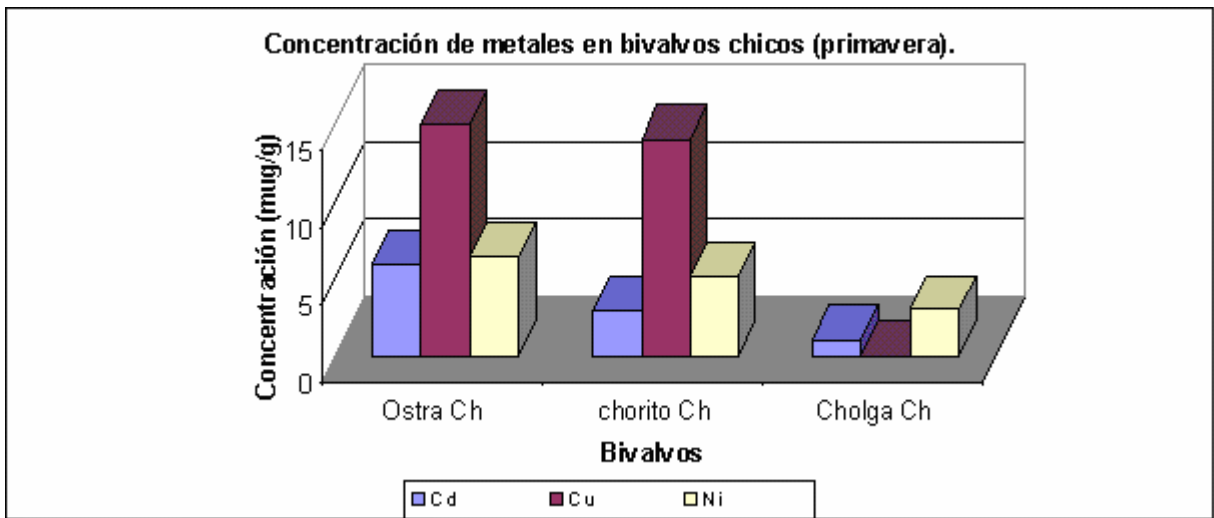
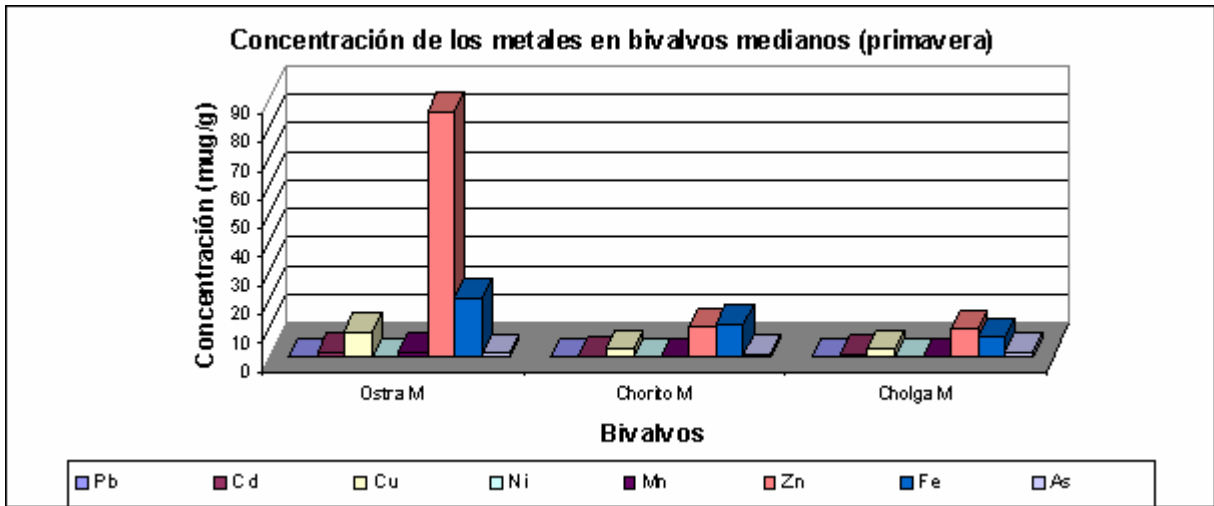
5.2.3 Gráficos comparando Cadmio con otros metales en invierno.



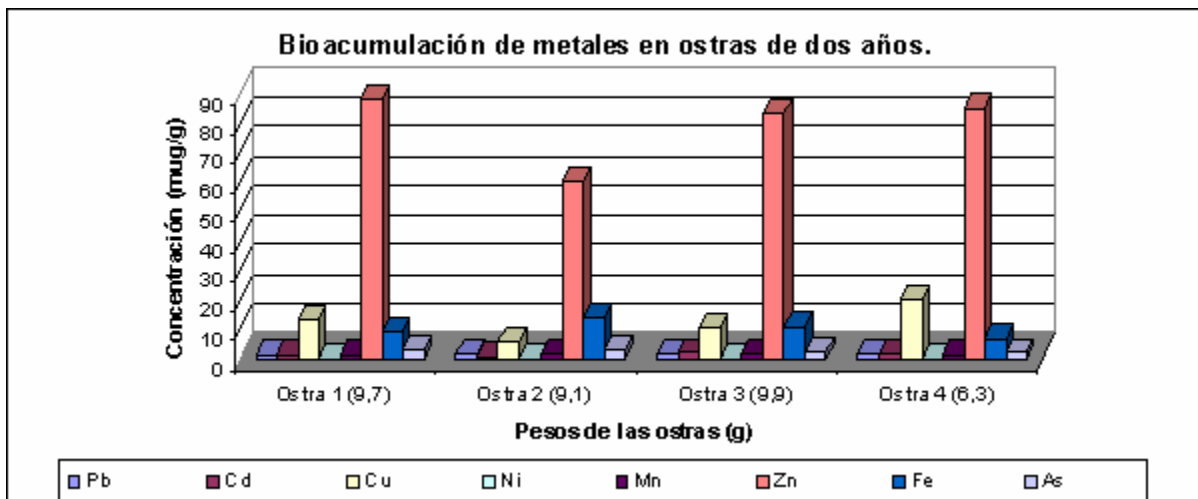


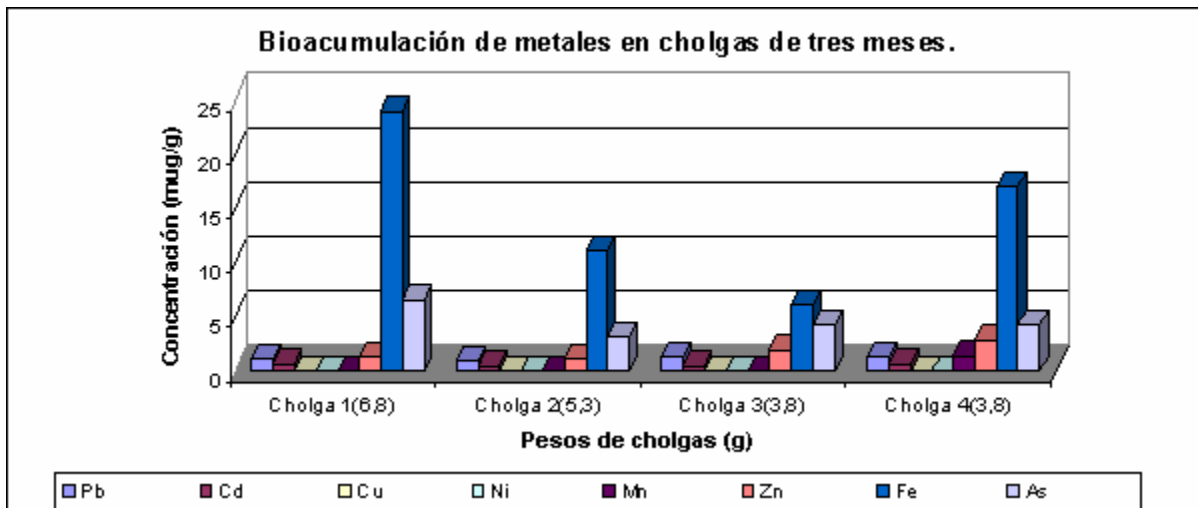
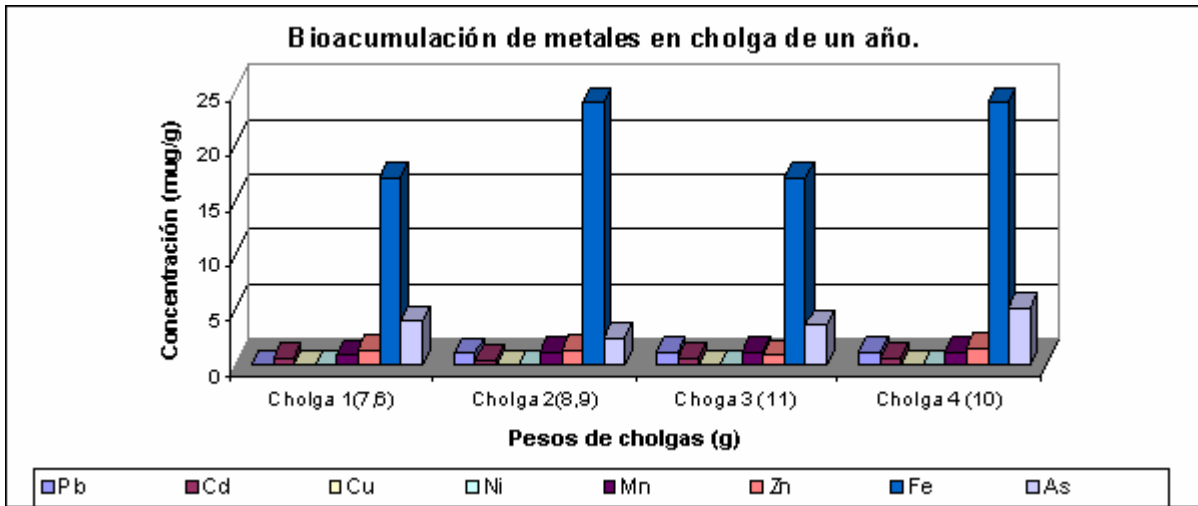
5.2.4 Gráficos comparando Cadmio con otros metales en primavera.





5.2.5 Gráficos de bioacumulación de metales en distintos períodos de maduración.





ANEXO 6

Fotografía de los instrumentos utilizados

Figura 1. Equipo de Espectrofotometría de Absorción Atómica UNICAM, modelo M-5.



Figura 2. Horno Microondas Millestone, modelo Ethos 1600, utilizado para realizar digestión ácida de las diferentes especies de moluscos.



Figura 3. Equipo de purificación de agua, para obtener agua Suprapur, libre de iones y minerales.



Figura 4. Espectrofotómetro de Absorción Atómica, Perkin Elmer, modelo 3110 y un generador de Hidruros, Perkin Elmer, MHS-10.



Figura 5. Homogenizador Ultra Turrax, modelo T 25, Marca IKA.

