



UNIVERSIDAD DE CHILE -FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE PREGRADO

**“NIVELES DE Cd, Cu y Zn EN LA LAPA *FISSURELLA SP.* EN EL  
BORDE COSTERO DE LA COMUNA DE CHAÑARAL”**

Seminario de Título entregado a la Universidad de Chile en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de

**Química Ambiental**

**FRANCISCA BELÉN FUENZALIDA SANDOVAL**

Director del Seminario de Título: Sr. Flavio Olivares Zuleta  
Profesora Patrocinante: M.Cs. Sylvia Violeta Copaja Castillo

Diciembre 2017  
Santiago - Chile



## INFORME DE APROBACIÓN SEMINARIO DE TÍTULO

Se informa a la Escuela de Pregrado de la Facultad de Ciencias, de la Universidad de Chile que el Seminario de Título, presentado por la Srta.

**Francisca Belén Fuenzalida Sandoval.**

“NIVELES DE Cd, Cu y Zn EN LA LAPA (*FISURELLA sp.*) EN EL BORDE COSTERO DE LA COMUNA DE CHAÑARAL”

Ha sido aprobado por la Comisión de Evaluación, en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de

**Química Ambiental**

### COMISIÓN DE EVALUACIÓN

*Sr. Flavio Olivares Zuleta*  
**Director Seminario de Título**

---

*M.Sc. Sylvia Copaja Castillo*  
**Profesora Patrocinante**

---

*M. Sc. Irma Vila Pinto*  
**Presidente Comisión**

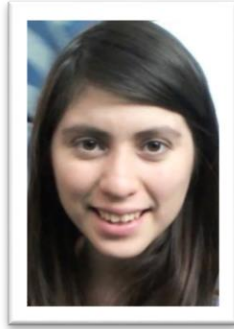
---

*Dr. Nicolás Yutronic Sáez*  
**Evaluador**

---

Santiago de Chile, diciembre de 2017

## Reseña



Nací el 13 de junio del año 1991, cursé mis estudios básicos en el colegio Piamarta, terminando la educación media en el colegio Poeta Rubén Darío de Maipú. Realicé un preuniversitario un año antes de entrar a la universidad en el año 2010. Aquí he permanecido durante 7 años aprendiendo de los fracasos, los cuales me han enseñado las cosas más importantes que sé.

## **Agradecimientos**

Agradezco a mis padres Elena y Alfredo, a mis hermanos Melinka y Gonzalo, a los amigos que hice y deshicé en mi camino universitario, a Gonzalo, a la tía Roxana y a todos quienes creyeron en mí, me dieron protección y apoyo, haciendo más liviana la carga académica. También agradezco a Flavio, el precursor de este trabajo.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b>I.</b>	<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
1.1	Antecedentes Generales.....	1
1.1.1	Contaminación marina.....	1
1.1.2	Bioacumulación y bioconcentración de sustancias químicas.....	2
1.1.2.1	Bioacumulación de metales en organismos marinos .....	3
1.1.3	Metaltiotéinas como mecanismo detoxificador .....	4
1.1.4	Indicadores de contaminación .....	4
1.1.4.1	Bioindicadores.....	5
1.1.5	Metales pesados en ecosistemas acuáticos.....	6
1.1.5.1	Cadmio en organismos acuáticos.....	7
1.1.5.2	Cobre en organismos acuáticos .....	9
1.1.5.3	Zinc en organismos acuáticos .....	10
1.2	Antecedentes Específicos .....	11
1.2.1	Contaminación por industria minera .....	11
1.2.2	Industria minera en Chile.....	12
1.2.3	Chañaral .....	13
1.2.4	Moluscos como bioindicadores.....	14
1.3	Hipótesis.....	16
1.4	Objetivos.....	16
1.4.2	Objetivos Específicos .....	17
<b>II.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>18</b>
2.1	Selección del área de estudio .....	18
2.2	Selección y obtención del material de estudio.....	19
2.3	Tratamiento de la Muestra .....	20
2.4	Preparación de Estándares.....	22
2.4.1	Reactivos .....	22
2.5	Análisis Químico .....	23
2.5.1	Espectrofotometría de Absorción Atómica con atomización por llama.....	23
2.6	Análisis Estadístico .....	23
2.6.1	Análisis de conglomerados (Cluster) .....	23
2.6.2	Análisis de componentes principales (ACP) .....	24
<b>III.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>25</b>
3.1	Análisis Químico de Cd, Cu y Zn en lapas ( <i>Fissurella sp.</i> ).....	25
3.1.1	Distribución y vías de incorporación de Cu, Cd y Zn en lapas de las diferentes estaciones analizadas.....	25
3.1.2	Distribución de los metales Cu, Cd y Zn según el tamaño promedio de lapas analizadas. ....	29

3.1.3	Distribución de Cu, Cd y Zn en lapas considerando los diferentes sitios de muestreo.....	31
3.2	Análisis estadístico de Cd, Cu y Zn en lapas ( <i>Fissurella sp.</i> ) .....	35
3.2.1	Análisis de Conglomerados (Cluster) .....	35
3.2.2	Análisis de Componentes Principales (ACP) .....	36
<b>IV.</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>39</b>
<b>V.</b>	<b>REFERENCIAS</b> .....	<b>41</b>
<b>VI.</b>	<b>ANEXO I</b> .....	<b>54</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Diagrama de distribución de las especies del Cd. (Isern Roselló & Martínez Planas, 2011).....	8
<b>Figura 2.</b> Diagrama de distribución de las especies del Cu. (Isern Roselló & Martínez Planas, 2011).....	9
<b>Figura 3.</b> Diagrama de distribución de las especies del Zn. (Isern Roselló & Martínez Planas, 2011). ....	10
<b>Figura 4.</b> Línea de costa entre la bahía de Chañaral, Caleta Palito y Puerto Pan de Azúcar, mostrando antiguos y nuevos sitios de descarga (Castilla y Nealler, 1978). ....	14
<b>Figura 5.</b> Mapa de la zona de estudio y estaciones de muestreo, donde E1, E2 y E3 corresponden a las estaciones 1, 2 y 3 respectivamente (Lee y col. 2002). ....	18
<b>Figura 6.</b> Imagen del área de descarga del canal artificial en caleta Palito.....	19
<b>Figura 7.</b> Pesca de las muestras por buceo. ....	21
<b>Figura 8.</b> Promedio de concentración de Cd, Cu y Zn encontrados en los tejidos de lapas por estación de muestreo. (6 lapas en E2 y E3; 2 lapas en E1). ....	25
<b>Figura 9.</b> Concentración de Cd, Cu y Zn en los tejidos de lapas <i>Fissurella</i> sp. grandes (9,19 g a 16,12 g) y pequeñas (1,06 g a 2,77 g). ....	30
<b>Figura 10.</b> Concentración de Cd, Cu y Zn encontrados en los tejidos de dos lapas pequeñas (1,06 g a 2,77 g) por estación de muestreo.....	32
<b>Figura 11.</b> Cluster de lapas pequeñas (1,06 g a 2,77 g) en las estaciones 1, 2 y 3. ....	35
<b>Figura 12.</b> Análisis de los componentes principales del promedio de tamaño pequeño (Pe) de las tres estaciones muestreadas (E1, E2 y E3). ....	37

## ANEXO I

<b>Tabla 1.</b>	Especificación de las condiciones del EAA para Cd, Cu y Zn.....	54
<b>Figura 13.</b>	Curva de Calibración de Cd. ....	54
<b>Figura 14.</b>	Curva de Calibración de Cu. ....	55
<b>Figura 15.</b>	Curva de calibración de Zn.....	55
<b>Tabla 2.</b>	Concentración de Cu, Cd y Zn, masa y longitud de las lapas analizadas en el borde costero de la comuna de Chañaral. ....	56



## RESUMEN

El contenido de Cd, Cu y Zn fue analizado en tejido blando de la lapa *Fissurella sp.*, colectadas en abril de 2017 en la zona intermareal de la bahía de Chañaral, caleta Palito y caleta Pan de Azúcar, región de Atacama, Chile.

Los organismos seleccionados fueron deshidratados, sometidos a digestión ácida y analizados por espectrofotometría de absorción atómica. En cuanto al tamaño de las lapas, estas se separaron en dos grupos, tamaños pequeños (1,06 g a 2,77 g) y grandes (9,19 g a 16,12 g), en donde las primeras presentaron una mayor retención de los metales Cu (873,94  $\mu\text{g/g}$ ) y Zn (143,11  $\mu\text{g/g}$ ), mientras que las lapas de mayor tamaño acumularon más Cd (17,09  $\mu\text{g/g}$ ).

Se discutió las vías de incorporación de Cu, Cd y Zn en los tejidos de la lapa, así como otros factores externos que influyen en la captación de estos metales por parte del organismo, la influencia del tamaño, la ubicación de las fuentes de contaminación, como la importancia de la contaminación realizada en Chañaral anterior al año 1975.

El análisis se realiza en lapas inmaduras (de menor tamaño) para una comparación entre sitios sin la influencia de cambios físicos asociados a la época reproductiva. Las concentraciones promedio de Cu, en las lapas pequeñas, fueron más elevadas en bahía de Chañaral (1955,58  $\mu\text{g/g}$ ), mientras que el Zn lo fue en la caleta Palito (285,76  $\mu\text{g/g}$ ) y el Cd levemente mayor en la caleta Pan de Azúcar (8,96  $\mu\text{g/g}$ ).

Finalmente, se realizó un análisis de Cluster y de ACP, indicando que existen diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de concentración de Cd, Cu y Zn en los tejidos de las lapas *Fissurella sp.* que habitan en la bahía de Chañaral, caleta Palito y la caleta Pan de Azúcar, siendo las lapas de la bahía de Chañaral, las más afectadas por la contaminación de estos metales.

## ABSTRACT

The contents of Cd, Cu and Zn were analyzed in soft tissue of the *Fissurella sp.*, collected in April 2017 in the intertidal zone corresponding to the Bahía Chañaral, Caleta Palito and Caleta Pan de Azúcar, Atacama region, Chile.

The selected organisms were dehydrated, subjected to acid digestion and analyzed by atomic absorption spectrophotometry. As for the size of the limpets, these were separated into two groups, small sizes (1.06 g to 2.77 g) and large (9.19 g to 16.12 g) sizes, where the former had a higher retention of Cu 873.94 µg/g) and Zn (143.11 µg/g), while the larger scale limpets retained a little more Cd (17.09 µg/g).

The pathways for incorporation of Cu, Cd and Zn into the tissues of the lapa were discussed, as well as other external factors that influence the organism's uptake of these metals, the influence of size, location of sources of contamination, such as the importance of pollution in Chañaral prior to 1975.

The analysis is performed in immature (of smaller size) limpets for a comparison between sites without the influence of physical changes associated with the breeding season. Mean Cu concentrations in the small limpets were higher in Bahía Chañaral (1955.58 µg/g), while the Zn was in the Caleta Palito (285.76 µg/g) and the slightly higher Cd in the Caleta Pan de Azúcar (8.96 µg/g).

Finally, a Cluster and PCA analysis was performed, indicating that there are statistically significant differences between the concentration levels of Cd, Cu and Zn in the tissues of the *Fissurella sp.* that live in the Bahía Chañaral, Caleta Palito and the Caleta Pan de Azúcar, being the limpets of the Bahía Chañaral, those most affected by the contamination of these metals.

## I. INTRODUCCIÓN

### 1.1 Antecedentes Generales

#### 1.1.1 Contaminación marina

Existe una dependencia vital del hombre con el medio acuático, por esta razón, desde sus orígenes los grupos humanos se han asentado en la cercanía de los ríos, lagos y áreas costeras. A través de los siglos, las culturas sedentarias hicieron evidente el grado de contaminación provocado por el uso de cursos de aguas, incluido el mar, como receptáculo para verter los desechos en cantidades ilimitadas, uso especialmente potenciado por el acelerado desarrollo industrial y el crecimiento demográfico (Bore y col., 1986).

De esta forma, las zonas costeras generalmente son perturbadas por residuos de origen orgánico e inorgánicos asociados a las actividades industriales, mineras y urbanas que se desarrollan en su entorno, alterando significativamente la distribución, abundancia y composición de los compuestos ya existentes en estas áreas (Luoma 1990; Giordano et al. 1992; French 1993). A causa de esto, se han realizado numerosos estudios con el fin de evaluar el efecto de los compuestos provenientes de actividades antropogénicas, principalmente midiendo su concentración en el agua, sedimentos y organismos acuáticos (Ruiz & Salinas 2000; Bustamante et al. 2000).

Debido a la existencia de múltiples factores intrínsecos, especialmente porque no hay un enfoque único y ampliamente aceptado, es difícil establecer relaciones causa-efecto entre las perturbaciones ambientales de origen antropogénico respecto a los efectos observados en sistemas naturales. A pesar de esto, existen evidencias que indican que ciertos factores ambientales incrementan la probabilidad de que ocurra un daño (Fox, 1991). La causa de un daño ambiental puede ser definida como “un factor de estrés que ocurre a una intensidad, duración y frecuencia de exposición que ocasiona un cambio apreciable en la integridad de los ecosistemas” (Adams, 2003).

La habilidad de establecer relaciones causa-efecto entre factores derivados de la actividad antropogénica que producen el estrés y sus efectos ecológicos, es particularmente importante en la política ambiental, ya que deriva en aspectos tales

como la regulación de vertidos, la preservación de áreas protegidas, la biorremediación de ecosistemas, y otros aspectos ambientales y legislativos.

### 1.1.2 Bioacumulación y bioconcentración de sustancias químicas.

La **bioacumulación** es un proceso en el cual una sustancia química es absorbida en un organismo por todas las vías de exposición como ocurre en el ambiente natural, es decir, en la dieta y las fuentes del medio ambiente. Es el resultado neto de procesos competitivos de captación química en el organismo, incluyendo el intercambio respiratorio, la egestión fecal, la biotransformación metabólica del compuesto original y la dilución por un aumento en el volumen de tejido del organismo (o dilución del crecimiento) (Arnot & Gobas, 2006).

Por otro lado, la **bioconcentración** es el proceso mediante el cual una sustancia química es absorbida por un organismo del medio ambiente sólo a través de sus superficies respiratorias y dérmicas, es decir, la exposición química en la dieta no está incluida. Es el resultado neto de las tasas competitivas de absorción química en la superficie respiratoria (por ejemplo, branquias en el pescado) y la eliminación química incluyendo el intercambio respiratorio, la egestión fecal, la biotransformación metabólica del compuesto original y la dilución del crecimiento.

La dilución del crecimiento se considera un proceso de "pseudo-eliminación" ya que el producto químico no es realmente eliminado por el organismo, pero la concentración puede ser diluida por un aumento en el volumen de tejido. El grado en que esta medición se produce, se expresa como el factor de bioconcentración (FBC) y sólo puede medirse en condiciones controladas de laboratorio (Arnot & Gobas, 2006). El factor de bioconcentración (FBC) que se utiliza para calcular la distribución de metales pesados entre el sedimento y la biota se define como:

$$FBC = \frac{C_{\text{Sedimento}}}{C_{\text{Biota}}}$$

Donde  $C_{\text{Biota}}$  es la concentración total de metales en la biota (ppm/mg/kg) y  $C_{\text{Sedimento}}$  es la concentración total de metales en el sedimento (ppm/mg/kg) (Mountouris y col., 2002).

### 1.1.2.1 Bioacumulación de metales en organismos marinos

Los organismos en sistemas acuáticos pueden incorporar los metales a través de diferentes vías, para que a través de la cadena trófica esta incorporación llegue a producir efectos tóxicos o de acumulación en los tejidos, el metal debe estar formado por compuestos biológicamente disponibles. La tasa de bioacumulación depende de la especie, ya que esta sucede en diferentes lugares en las que acumulan los metales en mayor concentración. En peces, generalmente los metales se acumulan en el hígado y en el riñón, aunque el mercurio tiende a acumularse en concentraciones relativamente altas en los músculos. Además de esto, la edad del individuo afecta también en la tasa de ingestión, y en algunas especies se puede encontrar diferencias en machos y hembras, en las tasas de depuración. (Bore y col., 1986).

En los crustáceos, la asimilación de metales como Cd y Zn, puede ser siempre explicada en términos más allá de los cambios fisicoquímicos. Así, la bioacumulación se incrementa con el aumento de los niveles de las especies disueltas en el agua como los iones libres hidratados, los cuales a su vez son afectados por los cambios de salinidad y por la presencia de agentes quelantes (Márquez y col., 2008).

En los moluscos, los metales pesados han sido asociados con una serie de modificaciones y adaptaciones fisiológicas, lo que les permite su tolerancia y bioacumulación selectiva, tanto entre especies como entre los diferentes tejidos. El incremento en la tolerancia a los metales pesados se asocia con la inducción de proteínas afines a los metales (Roesijadi, 1986; Viarengo et al., 1988), se han encontrado niveles superiores de Cu en los filamentos del biso de todos los organismos con esta estructura, mientras que en el mejillón *Dreissena polymorpha* se acumula Cd en los tejidos blandos y Cu, Zn y Pb en los filamentos del biso, proponiéndose este medio como un mecanismo de limpieza o liberación de los contaminantes (Baqueiro-Cárdenas y col., 2007).

Los mecanismos de protección, no sólo actúan en el nivel interno celular y subcelular. Tournié y Mednaoui (1986) encontraron que el caracol *Hydrobia ulvae* produce y libera al medio agentes quelantes que pueden regular la disponibilidad local del cobre.

### **1.1.3 Metaltiotéínas como mecanismo detoxificador**

Las metaltiotéínas, son metalo-proteínas de baja masa molar ricas en cisteínas, generalmente enlazadas a metales como el Hg, Cu, Zn, Ag y preferentemente Cd a través de sus grupos tiol (-SH). En los organismos vertebrados, se encuentran en el aparato de Golgi de las células (Sigel y col., 2009).

Aunque no están aclaradas las funciones de la metaltiotéínas, datos experimentales sugieren que entre las funciones de estas metalo-proteínas en primer lugar, proveen la homeostasis de metales esenciales, un depósito de Zn y Cu, disponible para cumplir con las demandas enzimáticas para la síntesis de metalo-enzimas y mantenimiento del equilibrio de muchos procesos celulares. En segundo lugar, la detoxificación de metales esenciales (en concentraciones tóxicas) y no esenciales, es decir, reducen la unión no específica de los metales no esenciales dentro de las células, disminuyendo su potencial tóxico. (Mason & Jenkins, 1995). La metaltiotéína es la principal proteína intracelular que enlaza el Zn en mayor proporción que otras proteínas. (Miles y col., 2000).

La labor de la metaltiotéínas ha sido detectada en los organismos marinos que habitan en áreas contaminadas y en experimentos *in vitro* con metales como Ag, Cd, Cu, Hg y Zn. El alcance de la función de las metaltiotéínas varía entre especies y tejidos, en cuanto a lo último, las branquias, glándulas digestivas y riñones son considerados los más importantes en la recepción, almacenamiento y eliminación de metales (Bebiano & Langston 1998).

### **1.1.4 Indicadores de contaminación**

Los desperdicios que caen en las corrientes de los recursos hídricos, contienen sustancias cada vez más agresivas y difíciles de tratar, debido a su naturaleza química. Agencias gubernamentales, ambientales, universidades y diversas organizaciones realizan programas de monitoreo, estudiando parámetros físicos, químicos y biológicos del agua, evaluando el impacto antropogénico sobre los recursos hídricos. El tratamiento de los datos obtenidos mediante monitoreo, suele ser complicado debido a que el proceso de valoración de la calidad está sujeto a factores como el uso del agua y

comunidades biológicas que habitan en los sistemas acuáticos, involucrando también aspectos socioeconómicos (Fernández & Solano, 2005).

Los índices de calidad del agua engloban parámetros fisicoquímicos y también microbiológicos, conocidos como **Índices de calidad del agua (ICA)** e **Índices de contaminación del agua (ICO)**. Los trabajos de mayor envergadura se basan en la metodología Delphi, donde se utilizan nueve parámetros, que incluyen:

- la demanda bioquímica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>),
- oxígeno disuelto (OD),
- coliformes fecales,
- nitratos (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>),
- pH,
- cambio de temperatura,
- sólidos disueltos totales (SDT),
- fosfatos totales y
- turbiedad (Samboni y col., 2007).

#### **1.1.4.1 Bioindicadores**

Un **indicador biológico** puede definirse como un organismo que puede utilizarse para cuantificar los niveles relativos de contaminación mediante la medición de la concentración tóxica en sus tejidos. Puede usarse el organismo entero, o una parte de él, o un solo tejido (que puede secuestrar metales del resto del organismo) (Phillips, 1977).

Muchas de las especies que habitan en el medio son incapaces de adaptarse ecológica o genéticamente a la alteración ambiental, de modo que su ausencia es un indicador de problemas en la zona estudiada. El comportamiento de las especies sobrevivientes ante estas condiciones, no es natural debido a que se ven alterados factores como el hábito, fisiología, demografía y relaciones con otros organismos (García y Rubiano 1984). De este modo, un bioindicador también es un organismo o comunidades de organismos que responden, ya sea con alteraciones en sus funciones vitales o con la acumulación de tales sustancias ante la contaminación, proporcionando de este modo información sobre el medio en que se encuentran (Arndt y col., 1987).

Existen numerosos organismos que pueden ser utilizados como bioindicadores, entre los cuales destacan especies de plantas vasculares, briofitas, algas, líquenes, hongos, animales invertebrados y animales vertebrados. (Lijteroff, 2009).

Las características ideales que deben presentar los organismos para ser empleados como indicadores son: la capacidad de acumular al contaminante, ser sedentario y representativo de una amplia área, ser lo suficientemente longevos para recolectar más de una clase de edad, proveer suficiente tejido para los análisis químicos y tolerar amplios rangos de salinidad (Phillips, 1977; Phillips & Segar, 1986).

Los factores que tienen un papel determinante en la acumulación de los metales son: la talla (edad) de los organismos (Boyden, 1974, 1977; Cossa y col., 1979); el sexo (Orren y col., 1980; Latouche & Mix, 1982); la composición bioquímica de los organismos y factores genéticos (Frazier y col., 1985); los ciclos de desove, que afectan la condición y peso de los organismos (Lobel & Wright, 1982; Marigómez & Ireland, 1990); así como la biodisponibilidad del metal, temperatura y salinidad (Phillips, 1976; Lares & Orians, 1997).

### **1.1.5 Metales pesados en ecosistemas acuáticos**

Los ecosistemas acuáticos están antropogénica o naturalmente expuestos a una variedad de metales cuyas formas y concentraciones químicas se rigen por procesos geoquímicos. Los metales incorporados pueden ser tanto elementos esenciales o fisiológicos, requeridos por los organismos para soportar procesos biológicos (Cu y Zn), como también, metales no esenciales o xenobióticos, como el caso de Cr, Cd, Hg y Ag, de los cuales se desconoce si tienen alguna función biológica (Deb & Fukushima, 1999).

Una vez en la columna de agua, el metal es afectado por factores ambientales que determinan la forma química de éste. Entre éstos se encuentran la cantidad de oxígeno disuelto, el pH, el potencial redox, la salinidad, la presencia de materia orgánica particulada (MOP) e inorgánica particulada (MIP) y la actividad biológica, la cual, junto a las propiedades de cada metal, influyen en su biodisponibilidad, acumulación y toxicidad (Lobban & Harrison, 1995; Owens y col., 1997; González-Dávila, 1995). Esto significa, para el caso de un metal traza su disponibilidad ambiental es afectada por factores que hacen cambiar su concentración en el ambiente previo a la incorporación por parte de los organismos acuáticos (Landrum y col., 1994).



La **especiación de los metales** determina en gran medida la biodisponibilidad de los mismos y aunque se encuentra controlada por condiciones ambientales también está influenciada por propiedades intrínsecas de los organismos, así como por la existencia de ligandos complejantes (Janssen y col., 2003). Algunos de los organismos acuáticos ofrecen una resistencia a los contaminantes, en cuanto a los metales pesados, esta es motivada por la aclimatación fisiológica o adaptación evolutiva.

Diversos estudios realizados con animales marinos en laboratorio, muestran como la absorción de metales pesados afecta ciertos genotipos, lo cual resulta en una alteración genética (Duan y col., 2000). Esto último ha provocado una reducción de la diversidad genética, la cual podría llevar a una inestabilidad en la población, incrementando el riesgo de desaparición de poblaciones en los ecosistemas (Ross y col., 2002). Esto deriva a que los análisis químicos por si solos no puedan proporcionar evidencia de los efectos biológicos que los metales pueden causar sobre los organismos, por lo tanto, no permiten determinar el grado de contaminación que producen sobre los ecosistemas (Chapman y col., 2003).

Los estudios de toxicidad dentro del laboratorio se realizan para poder determinar la relación entre la exposición de contaminantes y los efectos ocasionados sobre organismos individuales. De manera que el empleo de ensayos de toxicidad, que miden los efectos biológicos a través de las respuestas de organismos marinos, particularmente sus etapas más tempranas de desarrollo, ha sido propuesto como una herramienta apropiada para la evaluación de la contaminación (His y col., 1999).

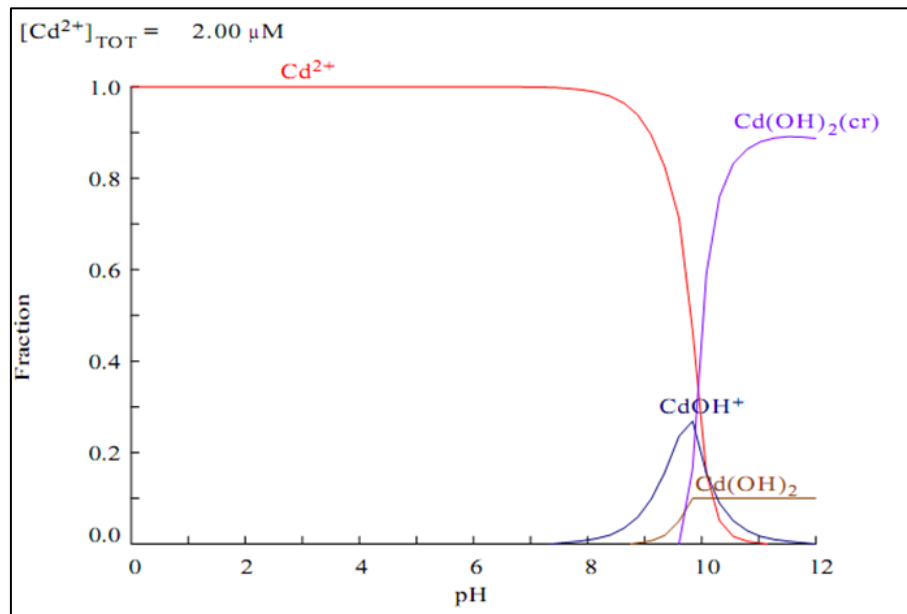
#### **1.1.5.1 Cadmio en organismos acuáticos**

El Cd no es un metal esencial y se considera un contaminante relativamente reciente. La forma más común del Cd es el sulfuro (CdS), existe una gran solubilidad de este elemento en sistemas óxicos respecto de los otros metales. Bajo condiciones aeróbicas, el Cd es un débil competidor en la adsorción sobre oxihidróxidos metálicos (Bewers y col., 1987) y por lo tanto es factible que predominen las formas disueltas Cd (II).

El pH y el potencial redox (Eh) son los principales factores que controlan su movilidad. En la Figura 1 se aprecia que a pH inferiores a 6, todo el Cd disuelto aparece

como ion libre. Para pH alcalinos forma hidróxidos ( $\text{CdOH}^+$ ,  $\text{Cd}(\text{OH})_3^-$ ; y  $\text{Cd}(\text{OH})_4^{2-}$ ) y como también puede formar carbonatos ( $\text{CdHCO}_3^+$  y  $\text{CdCO}_3$ ) (Adriano, 2001 a).

Las fuentes de Cd en el océano pueden ser tanto naturales como antropogénicas, es utilizado en diversas industrias y en la naturaleza se encuentra ligado al Zn, metal con características químicas similares, por lo que, en los sistemas biológicos el Cd puede competir con el Zn, además del Cu y el Ca, por los sitios de unión de estos elementos en las macromoléculas. Su competencia con el calcio, puede resultar en la deformación de los huesos, debido a que el Cd(II) presenta un radio iónico semejante al ion de calcio, esto deriva a que pueda reemplazarlo en los huesos. El Cd puede acumularse en el riñón y en el hígado e induce inmuno supresión (Nordberg, 2009).



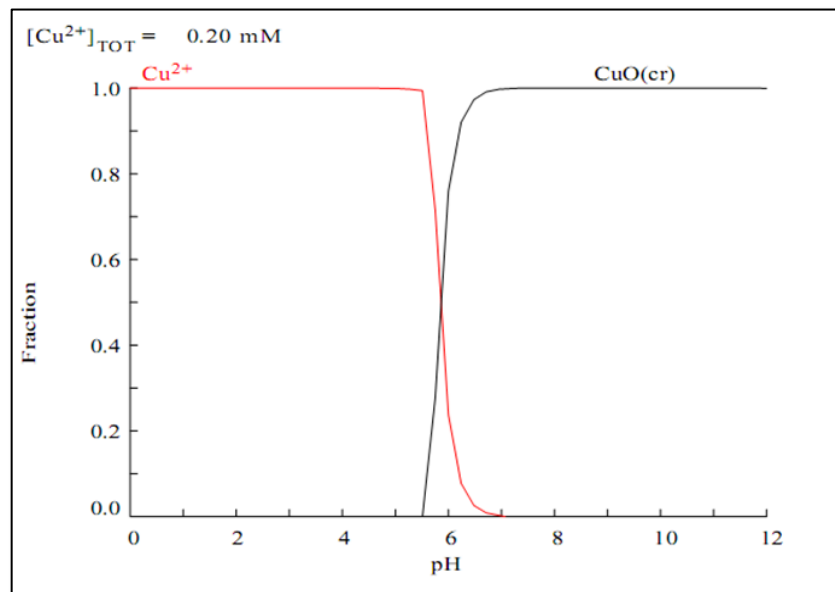
**Figura 1.** Diagrama de distribución de las especies del Cd. (Isern Roselló & Martínez Planas, 2011).

La Comunidad Económica Europea (CEE) (2001) ha fijado el contenido máximo en moluscos bivalvos para consumo humano en  $1 \mu\text{g/gph}$ , es decir, si estos organismos se encuentran expuestos a elevados niveles ambientales de Cd, este puede presentar carácter tóxico y acumulativo (Repetto, 1995; Capó Martí, 1998).

### 1.1.5.2 Cobre en organismos acuáticos

La disponibilidad ambiental del Cu en un sistema costero y su difusión hacia los organismos está determinada por la interacción entre las fases disueltas y particulada (Benson, 1994). Las formas predominantes del Cu en el agua de mar son las asociaciones complejas de Cu (II) con hidróxidos y carbonatos, en condiciones aeróbicas y también como catión libre, en condiciones ácidas (Garrels & Christ, 1990; Adriano, 2001 b).

Como se observa en la Figura 2, al aumentar el pH, aumenta la concentración del compuesto  $\text{CuOH}^+$  y puede precipitar (Navarro, A. y col, 1998). Debido a que este elemento tiende a asociarse mayoritariamente a la materia orgánica disuelta (MOD) y particulada (MOP) (Gadh y col., 1993), un 90% del Cu en un sistema acuático se encuentra formando complejos con la fracción húmica en disolución (Rosas, H., 1992), disminuyendo con ello su disponibilidad ambiental como catión libre.



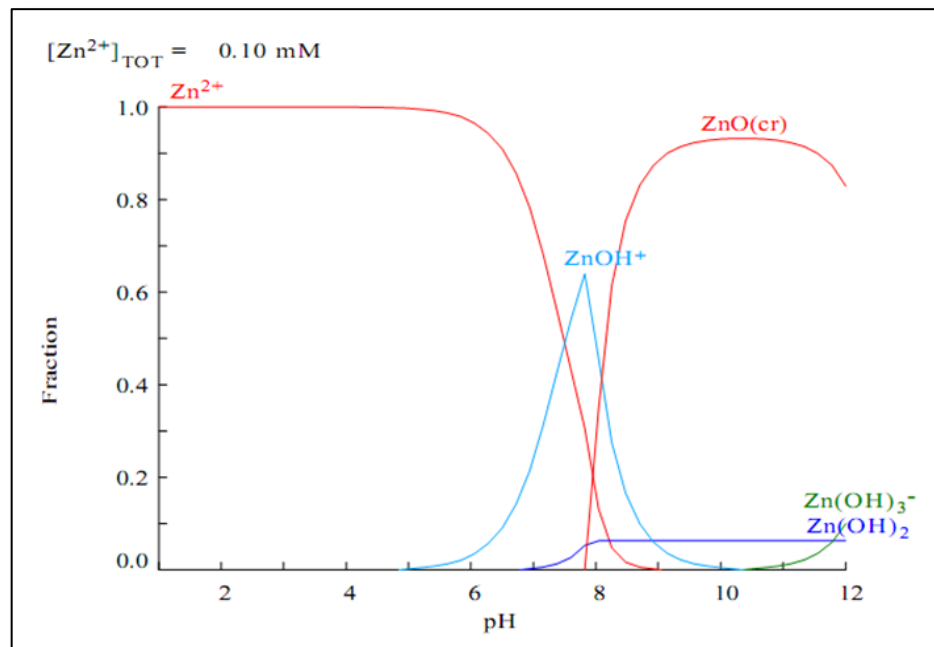
**Figura 2.** Diagrama de distribución de las especies del Cu. (Isern Roselló & Martínez Planas, 2011).

El Cu es un elemento traza que tiene un comportamiento biogeoquímico tipo micronutriente esencial para la vida, ya que, entre otros es constituyente de la plastocianina (transporte de electrones en la fotosíntesis), de los citocromos (transporte de electrones en la respiración) y cofactor de algunas enzimas como las amino oxidasas

(Lobban & Harrison, 1995). Sin embargo, sobre ciertas concentraciones se vuelve tóxico produciendo entre otros efectos la inhibición del metabolismo en el fitoplancton (Muller, 1998; Bruland y col., 1991) y síntomas bioquímicos de estrés en moluscos bivalvos (Luoma, 1994).

### 1.1.5.3 Zinc en organismos acuáticos

En el ambiente acuático, el Zn se asocia principalmente con materia en suspensión antes de acumularse finalmente en el sedimento (Saquid, 1992). En aguas superficiales se encuentra en forma inorgánica, iónica o coloidal, siendo las especies más frecuentes Zn (II), Zn (OH)<sup>+</sup> y ZnCl<sup>3-</sup> (Adriano, 2001 c) (figura 3).



**Figura 3.** Diagrama de distribución de las especies del Zn. (Isern Roselló & Martínez Planas, 2011).

Las evidencias sobre la **biodisponibilidad del Zn** en sedimentos han sido documentadas en investigaciones de plantas e invertebrados que se alimentan de los sedimentos, tal es el caso de los moluscos y algas recogidos en el río Ebro, las cuales reflejan las concentraciones de este metal en los sedimentos (Shcutmatcher y col., 1995). Otros investigadores han indicado que los organismos relacionados con el

sedimento presentan concentraciones de Zn más elevadas que los organismos que habitan en la capa acuosa (Begum y col., 2005).

El Zn está implicado en un gran número de rutas fisiológicas, por lo que es considerado nutritivo para los organismos, sin embargo, altas concentraciones en los peces influyen negativamente en el sistema de reproducción, pudiendo causar problemas en las branquias, generando estrés, abrasión de la piel, hemorragia en las aletas y degeneración de la actividad hepática (Eisler, 1993; Hogstrand y col., 1994; Landing y col., 1992). Los efectos tóxicos de este metal a altas concentraciones, pueden explicarse por la alta afinidad del Zn por los grupos SH y OH, así como gran capacidad complejante de aminoácidos, péptidos, proteínas y ácidos nucleicos. A concentraciones subletales ha demostrado ser desestabilizante de ADN, membranas, lisosomas y ribosomas, e interacciona con otros iones metálicos esenciales como Ca, Mg, Cu y Fe. Disminuye el contenido celular de los dos últimos, por lo tanto, de ferritina, hemosiderina y ceruloplasmina, y altera a otras biomoléculas que los utilizan como cofactor (Moreno y col., 1999).

## **1.2 Antecedentes Específicos**

### **1.2.1 Contaminación por industria minera**

Mundialmente, las actividades mineras son reconocidas por el gran impacto ambiental que causan, principalmente por la deposición de grandes volúmenes de desechos con alto contenido de metales pesados, afectando en mayor medida las zonas aledañas donde se desarrollan.

Las explotaciones conllevan la extracción a la superficie de grandes depósitos de roca enterradas en la corteza terrestre, las cuales, al procesarlas originan dos principales tipos de residuos: Los **minerales** que hay que retirar para poder llegar a las “menas”, donde se concentran los elementos y los **residuos** generados luego de los tratamientos para lograr la extracción de los metales. Estos últimos residuos son considerados los más peligrosos, debido a su composición, que consiste en finas partículas de roca molida con alto contenido de metales, mezclado con una serie de productos químicos empleados para el proceso de extracción (Jacob & Otte, 2004; Gieré y col., 2003). Al meteorizarse y oxidarse debido al contacto con el aire, estos residuos producen “drenajes ácidos mineros” (Saínez y col., 2002), fenómeno que también se da de manera

natural, pero debido al pequeño tamaño de las partículas incrementa la superficie donde ocurre este proceso, haciéndolo considerablemente más significativo. Esta "erosión oxidativa" es responsable de la formación de iones hidrógeno, que acidifican el pH de los residuos y provocan que los metales se disuelvan con mayor facilidad, resultando en un conjunto de contaminantes solubles acumulados (EMCBC, 1996).

Los **drenajes ácidos mineros** son una de las contaminaciones más peligrosas que existen, por su naturaleza, drenaje y extensión, además del alto costo económico y lo difícil que resulta remediar los daños producidos (Azcue, 1999).

### **1.2.2 Industria minera en Chile**

La minería del cobre en Chile se basa en minas abiertas o subterráneas distribuidas a lo largo de la Cordillera de los Andes. Esta área se caracteriza por los depósitos de pórfido, que son la principal fuente mundial de cobre y molibdeno (Ramírez y col., 2005).

En la segunda mitad de la década de los sesenta, la expansión del sector minero fue considerada un instrumento decisivo para la conquista de los mercados mundiales y como fuente de financiamiento de los pilares del programa socioeconómico del gobierno de la época, la reforma agraria y el desarrollo industrial. Debido a que esta actividad representaba el principal recurso de exportación, la gran minería de cobre fue considerada como el "sueldo de Chile" o la "viga maestra" del desarrollo económico del país (Ortega, 1989).

La minería en Chile representa alrededor del 40% en las exportaciones anuales y más del 30% de la inversión extranjera desde 1990 a la fecha, aportando entre 8% a 10% del producto interno bruto nacional (Banco Central, 2004). Además, la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos revela que Chile es el mayor productor de cobre del mundo, aumentando en 265% su producción desde 1990 (OCDE, 2005).

En general, durante esta época estuvo prácticamente ausente el tema de los recursos naturales no renovables y el desarrollo productivo de la minería en relación con el medio ambiente. Debido a la necesidad de incrementar la producción y las ganancias, no se consideraron debidamente los graves perjuicios que las actividades mineras provocaron en los sistemas naturales de las zonas afectadas. La literatura de la época no da mayores indicios de preocupación por temas relacionados con la contaminación y

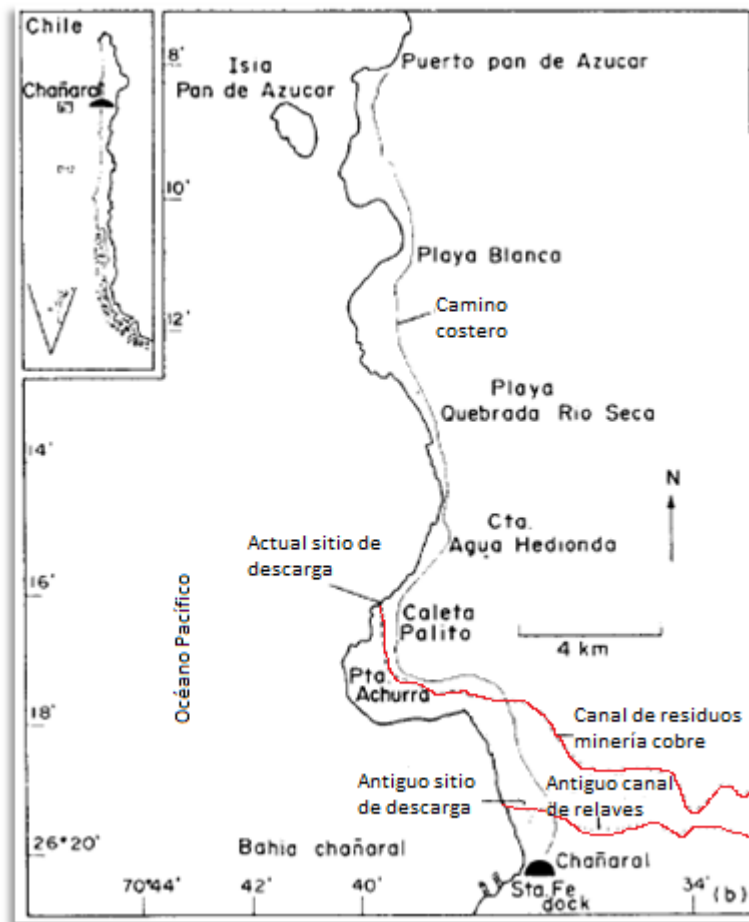
los altos requerimientos de agua derivados de las actividades mineras (Camus & Hajek, 1998).

### **1.2.3 Chañaral**

Desde 1938, en la bahía de Chañaral (26° 21' lat. S., 70° 42' Long. W.) se han dispuesto desechos sin tratar de las minas de cobre de Potrerillos y El Salvador, Chile. Más de  $220 \times 10^6$  toneladas de desechos fueron arrojados por el río Salado directamente al mar desde 1938 a 1974 (Castilla & Nealler, 1978) donde se acumularon cerca de 150 millones de toneladas de sedimentos finos. El vertedero se trasladó a Caleta Palito, 8 km al norte de la Bahía de Chañaral (figura 1), donde se acumularon a una tasa de 25.000 – 30.000 ton de sedimentos finos por día.

Entre 1976 y 1989, Caleta Palito recibió cerca de 130.000 millones de toneladas métricas de residuos mineros con una concentración total de cobre de 6000-7000 µg/L (Ramírez y col., 2005) entre otros metales traza, causando deterioro del medio marino costero, reducción de la penetración de la luz y alta mortalidad entre los invertebrados marinos, peces y algas. Aproximadamente el 70% de los sedimentos contaminados quedaron atrapados en la bahía de Chañaral, mientras que el otro 30% abandonó este sitio, por lo que al menos 9 metros de sedimentos permanecieron depositados en el centro de la playa artificial (Castilla, 1983).

En 1990, un tribunal ambiental decidió que se construyera una represa de sedimentación en el desierto entre la mina de El Salvador y la zona costera (Caleta Palito), por lo que se han canalizado aguas residuales libres de sedimentos, vertiendo estas "aguas claras", con un caudal de 200-250 L/s que no contienen más de 2000 µg/L de cobre (Lee y col., 2001; Medina y col., 2005).



**Figura 4.** Línea de costa entre la bahía de Chañaral, Caleta Palito y Puerto Pan de Azúcar, mostrando antiguos y nuevos sitios de descarga (Castilla y Nealler, 1978).

#### 1.2.4 Moluscos como bioindicadores

La capacidad de los moluscos, por sobre otros organismos marinos, de concentrar metales pesados en algunos órdenes de magnitud sobre las cantidades encontradas en el agua de mar han sido estudiada por muchos años (Brooks & Rumsby, 1965; Bowen, 1966). Se han realizado investigaciones tanto en el grado como en la tasa de este fenómeno, pero se ha aplicado poco esfuerzo para determinar el modo bioquímico de esta acumulación (Howard y col., 1977).

**Mejillones** de la especie *Mytilus* han demostrado ser especialmente adecuados para medir los niveles de exposición de los contaminantes debido a su capacidad para



calcular las fluctuaciones relativamente a corto plazo y proporcionar una imagen válida del estado del medio marino (Schulz-Baldes, 1974). Sin embargo, estos mejillones no se encuentran en todos los lugares costeros, como en este caso particular, no se hayan en los sitios de nuestro interés en la zona costera de la comuna de Chañaral.

Por otro lado, las concentraciones de oligoelementos acumulados en los moluscos dependen de las especies examinadas. Howard y col. (1977), compararon las concentraciones de metales traza en los moluscos y llegaron a la conclusión de que, en los moluscos británicos comunes, los mayores niveles de Cd, Zn y Cu se encuentran generalmente en ostras, lapas, bucles y percebes.

La **lapa** al igual que los mejillones, concentra metales dentro de su tejido vivo muchas veces sobre las concentraciones ambientales (Preston y col., 1972). Estos gasterópodos están presentes en casi todas las costas rocosas del mundo y poseen movilidad reducida, siendo buenos monitores para lugares específicos. Sin embargo, carecen de la plasticidad de los mejillones y no sobreviven tan bien en el laboratorio (Davies y col., 2005).

Jacinto & Aguilar (2007) estudiaron la afinidad de diversos elementos metálicos en los órganos de la lapa *Fissurella sp.*, estableciendo que el Pb y Cd se concentran principalmente en las vísceras, mientras que el Cu y Zn se fija en mayor concentración en el músculo.

Ahn y Col. (2002) investigaron la distribución en la concentración de los metales Cu, Cd y Zn en la especie *Nacella concinna* en diferentes tejidos: gónadas, las vísceras y los tejidos restantes (en su mayoría pie) y según el sexo. Se ha informado que existen diferencias significativas de concentración entre las diferentes partes del cuerpo con los valores más altos de Cu, Cd y Zn en las vísceras, lo que indica que los metales deben ser absorbidos principalmente en la dieta. Las concentraciones de Zn y Cu en las gónadas se muestran significativamente más altas en la hembra que en el macho, el Zn desempeña algunas funciones durante la maduración de las gónadas o en fases de pre desove, además se han informado variaciones estacionales en la distribución tisular Patellidae en aguas templadas (Miramand y Bently, 1992).

Como los metales tienden a acumularse más en algunos tejidos que en otros, con resultados variados según la estación del año, muchos estudios simplemente

implican el análisis de la carne de lapa, sin localizarlo a ninguna parte del cuerpo particular (Davies y col., 2005).

Regionalmente, los estudios a lo largo de la zona costera en Chile han demostrado que existe una clara señal de contribución de metales traza a la zona costera, indicando alteración de los procesos de aporte natural de éstos (ej. zona norte, Castilla 1983; Olivares & Ruiz 1991; zona centro-sur, Salamanca y col., 1986; Salamanca & Camaño 1994; Salamanca 1996). Para evaluar el impacto de estos aportes, la lapa ha sido señalada como un posible organismo indicador de áreas costeras perturbadas por actividad antropogénica. Navrot J. y col., (1974) pudieron observar una correlación entre algunos metales concentrados en la especie de lapa *Patella rustica* con respecto a la distancia de emisiones de aguas residuales.

Considerando que la lapa *Fissurella sp.* se encuentra distribuida ampliamente a lo largo de la zona inter-mareal de la comuna de Chañaral, una zona metalogénica, con altos aportes naturales de metales, sumada a la existencia de varias descargas industriales y municipales (Salamanca y col., 2000), se realizó un estudio del contenido de Cu, Cd y Zn en los tejidos biológicos de la lapa *Fissurella sp.*, como indicador local de los aportes de estos metales en tres sitios ubicados en la zona intermareal de la comuna de Chañaral.

### **1.3 Hipótesis**

Existirían diferencias químicas y estadísticamente significativas entre los niveles de concentración de Cd, Cu y Zn en las lapas *Fissurella sp.* que habitan en la zona intermareal correspondiente a la bahía de Chañaral, Caleta Palito y Caleta Pan de Azúcar.

### **1.4 Objetivos**

#### **1.4.1 Objetivo General**

Analizar las concentraciones de los metales pesados Cu, Cd y Zn en la bahía de Chañaral, Caleta Palito y la caleta Pan de Azúcar, en la especie lapa *Fissurella sp.*

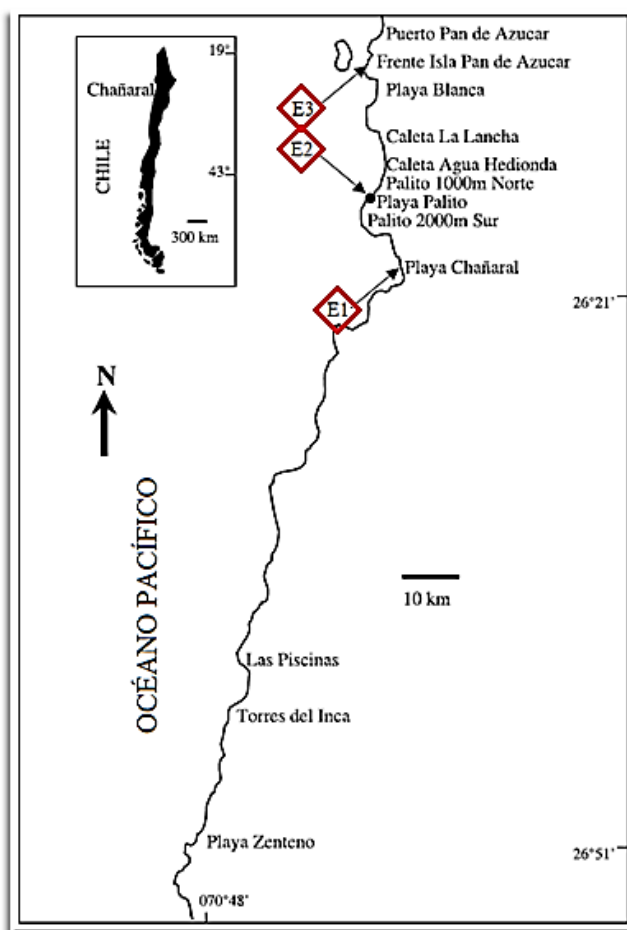
#### **1.4.2 Objetivos Específicos**

- Realizar la colecta de la especie “lapa” *Fissurella sp.* en la zona intermareal de la bahía de Chañaral, Caleta Palito y Caleta Pan de Azúcar.
- Analizar las concentraciones de Cd, Cu y Zn contenido en los tejidos de las muestras de lapas, mediante análisis químico y sus resultados estadísticos [Análisis de conglomerados (Cluster) y Análisis de Componentes Principales (ACP)].
- Determinar si existen diferencias significativas entre las áreas de estudio ubicadas en la bahía de Chañaral, Caleta Palito y Caleta Pan de Azúcar.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Selección del área de estudio

El muestreo se llevó a cabo al norte de la Región de Atacama, en la zona de la costa, donde se establecieron tres estaciones de estudio contiguas, las cuales se encuentran en la bahía de Chañaral, Caleta Palito y Caleta Pan de Azúcar, como se muestra en la figura 5.



**Figura 5.** Mapa de la zona de estudio y estaciones de muestreo, donde E1, E2 y E3 corresponden a las estaciones 1, 2 y 3 respectivamente (Lee y col. 2002).

La elección de los sitios de muestreo se basó en el impacto de los relaves mineros descargados entre los años 1938 a 1974 en la bahía de Chañaral, mientras que en la actualidad existen descargas de “aguas claras” que desembocan a través de un canal

artificial en Caleta Palito (figura 6). Por otro lado, la importancia de la estación ubicada en la zona intermareal de la caleta Pan de Azúcar, a pesar de no estar protegida en territorio marino, es un área es aledaña al Parque nacional Pan de Azúcar, territorio natural de lobos y nutrias marinas, como también lugar de reproducción de los pingüinos de Humboldt y Magallanes (Rundel, 1996).



**Figura 6.** Imagen del área de descarga del canal artificial en Caleta Palito.

## **2.2 Selección y obtención del material de estudio**

Las lapas que se utilizaron para el estudio se recolectaron en la zona intermareal costera correspondiente a su sitio de estudio según los factores de accesibilidad, representatividad y disponibilidad observados y evaluados *in situ*.

Se realizó una campaña de muestreo por sitio de estudio, comprendida entre los días 8 y 10 de abril del año 2017. En cada uno de ellos, se seleccionaron aproximadamente 15 lapas de tamaños diferentes (longitud de la concha de 4-9,5 cm).

Para obtener los moluscos, se realizó una pesca por buceo (Figura 7), se utilizó un cuchillo de punta roma para separar la lapa de las rocas, haciendo palanca suave y ejerciendo presión con la punta, cuidando de no dañar el pie de la lapa al separarla. Se

introdujieron en una bolsa hermética de plástico y fueron almacenadas en neveras equipadas con ice pack (-4°C), hasta su llegada al laboratorio.

### **2.3 Tratamiento de la Muestra**

En el laboratorio, luego de descongelar las muestras con agua potable, se procedieron a lavar con agua destilada, frotando con el guante la parte blanda lateral de las lapas, eliminando la mayor cantidad de una película negra, fina y viscosa adherida en sus cuerpos, además de algas y pequeños moluscos adheridos en la concha.

Desconchado de las lapas. Las especies almacenadas en el congelador a -4°C, donde se mantenían desde el muestreo en terreno. Fueron desconchadas para obtener solamente la parte blanda de cada molusco y fueron apostadas en cápsulas Petri. El material utilizado: espátula y cuchillo.

Secado de la Muestra. Las partes blandas de la lapa se secaron en estufa de temperatura programada a 40°C hasta masa constante por 48 h, sobre cápsulas Petri (Link, 1999; Lozada Zarate, 2008).

Separación de las muestras. Las lapas recolectadas, se dividieron en dos grupos de acuerdo a su masa seca, pequeñas (1,06 g a 2,77 g) y grandes (9,19 g a 16,12 g), eligiendo por sitio de muestreo, cuatro lapas pequeñas y dos grandes, es decir, seis lapas por estación. En la estación de Chañaral, los rangos de tamaño y masa eran muy similares, por lo que solo se eligieron dos lapas de tamaño pequeño.

El criterio de separación por tamaños se basó según la disponibilidad de datos, pretendiendo que las masas de cada tamaño fuesen similares entre sí. De esta forma, se hizo un análisis de los metales contenidos en las muestras según el método establecido por M. N. Gil (2006) en su publicación “Metales pesados en organismos marinos de la zona costera de la Patagonia argentina continental”.

Preparación del material de laboratorio. Los envases de plástico y material de vidrio a usar fueron previamente sometidos a un tratamiento de limpieza para descartar una posible contaminación, el cual se realizó de la siguiente manera:

- Se lavó el material con agua potable y detergente Extran® Merck.
- Se enjuagó con agua destilada.

- Se dispuso en solución de  $\text{HNO}_3$  P.A. Suprapur Merck al 10% p/v y se dejó por 48 horas.
- Se enjuagó 10 veces con agua destilada y 10 veces con agua desionizada.
- Finalmente se dejó secar y se almacenó hasta su uso.

Digestión ácida asistida por microondas. Al determinar metales trazas en muestras biológicas es necesario hacer una digestión de la muestra para obtener la muestra en solución y así poder facilitar el análisis de espectroscopia de absorción atómica.



**Figura 7.** Pesca de las muestras por buceo.

### 2.3.1 Materiales y reactivos

- Tubos recubiertos de teflón PFA 55 mL
- Envases plásticos de polietileno 120 mL
- Matraces aforo 50 mL
- Ácido Nítrico Suprapur® Merck
- Agua desionizada

### 2.3.2 Procedimiento

Se utilizó un equipo microondas MarsXpress 5 para realizar las digestiones, el cual está equipado con tubos recubiertos de teflón PFA de 55 mL, mangas protectoras de kevlar y sensor de temperatura Xpress. Esto facilita la digestión ya que permite un mayor control sobre la velocidad de calentamiento que el de las placas calefactoras y sobre la temperatura de la muestra en recipientes cerrados herméticamente, asegurando que los análisis trazas sean exactos y precisos. Por otro lado, la pérdida del analito es escasa siendo más fácil eliminar interferencias.

Cada tubo contiene aproximadamente 0,5 g de muestra sólida y seca con 10 mL del HNO<sub>3</sub> concentrado Suprapur® Merck 65%. Las muestras se introducen junto con 10 mL de HNO<sub>3</sub>, en los tubos de teflón cerrados herméticamente al microondas y se somete a un calentamiento con potencia elevada según las condiciones del diseño experimental. En este caso, el programa de temperatura utilizado en la digestión fue de 200°C por 15 minutos y una potencia de 1600 W, luego se dejaron enfriar a temperatura ambiente por 10 minutos. Las muestras digeridas fueron diluidas 5 veces en matraces de aforo de 50 mL con agua desionizada y guardadas en envases plásticos de polietileno y almacenadas a 4°C hasta el momento de sus análisis.

## 2.4 Preparación de Estándares

Se requiere de la elaboración de estándares para la determinación de cada metal, los cuales serán utilizados para construir las respectivas curvas de calibración. Las concentraciones de los estándares elegidas para cada metal, dependerán de los rangos especificados por el equipo y del tipo de muestra a medir.

### 2.4.1 Reactivos

- Solución Titrisol® Merck, con una concentración de 1000<sup>-1</sup> Merck disolución patrón de cada metal trazable a la NIST®.
- Agua desionizada
- Solución HNO<sub>3</sub> al 2% Suprapur® Merck

Preparación Solución HNO<sub>3</sub> al 2% Suprapur® Merck: Se midió una alícuota de 30,77 mL de Ácido Nítrico Suprapur® Merck con una probeta previamente lavada. Se trasvasió a un matraz de aforo de 1000 mL y se aforó con agua desionizada.



#### **2.4.2 Procedimiento preparación de estándares.**

Se utiliza una micropipeta de 10-100  $\mu\text{L}$  o 100-1000  $\mu\text{L}$  para tomar una alícuota de estándar stock Titrisol® Merck 1000 mg/L calidad Nist, según sea necesario, con el fin de lograr hacer las diluciones respectivas según la curva de calibración (Figuras 12,13 y 14, ANEXO I). Se prepararon los estándares en  $\text{HNO}_3$  (2%) Suprapur® Merck, con un matraz de aforo 100 mL. Se tomaron distintos volúmenes de estándar para lograr una curva de calibración para cada metal con distintas concentraciones.

### **2.5 Análisis Químico**

Los metales pesados motivo de estudio en lapas fueron Cd, Cu y Zn que fueron determinados por espectroscopia de absorción atómica con atomización de llama (FAAS, Equipo AA-6800, Shimadzu). Las condiciones de este análisis se encuentran especificadas en la tabla 1 del ANEXO I.

#### **2.5.1 Espectrofotometría de Absorción Atómica con atomización por llama**

Para la atomización en llama se utilizó un flujo de gas aire: acetileno para los 3 metales analizados. Las condiciones de medición de los metales dependen de las características propias de cada uno de ellos. Para su medición se utiliza una lámpara de cátodo hueco tipo BGC-SR propia de cada metal. Este equipo puede trabajar con un total de 20 lámparas individuales simultáneamente. Las condiciones para cada metal se resumen en la tabla 1, ANEXO I.

### **2.6 Análisis Estadístico**

Se realizó un tratamiento estadístico de los datos mediante el programa STATISTIC para la determinación de Cluster y R (versión 2.15.2; The R Foundation for Statistical Computing) para la determinación de análisis de componentes principales.

#### **2.6.1 Análisis de conglomerados (Cluster)**

Con el objeto de estudiar los contrastes espaciales del contenido metálico en las lapas y las diferencias en el contenido metálico entre los tamaños de las especies estudiadas, se aplicó un análisis Cluster, también conocido como Análisis de Conglomerados, cuya finalidad es dividir un conjunto de objetos en grupos de forma que los perfiles de los objetos en un mismo grupo sean muy similares entre sí (cohesión

interna del grupo) y los de los objetos de clusters diferentes sean distintos (aislamiento externo del grupo). (Salvador Figueras, 2001).

### **2.6.2 Análisis de componentes principales (ACP)**

El análisis de componentes principales permite reducir las  $M$  variables consideradas (los tres metales escogidos) de un conjunto de  $N$  observaciones, a un inferior de nuevas variables, las cuales soportan la mayor parte de la varianza. A estas nuevas variables se les denomina componentes principales y de ellas se extrae la mayor parte de la información contenida en las  $N$  observaciones. (Polo, 2000).

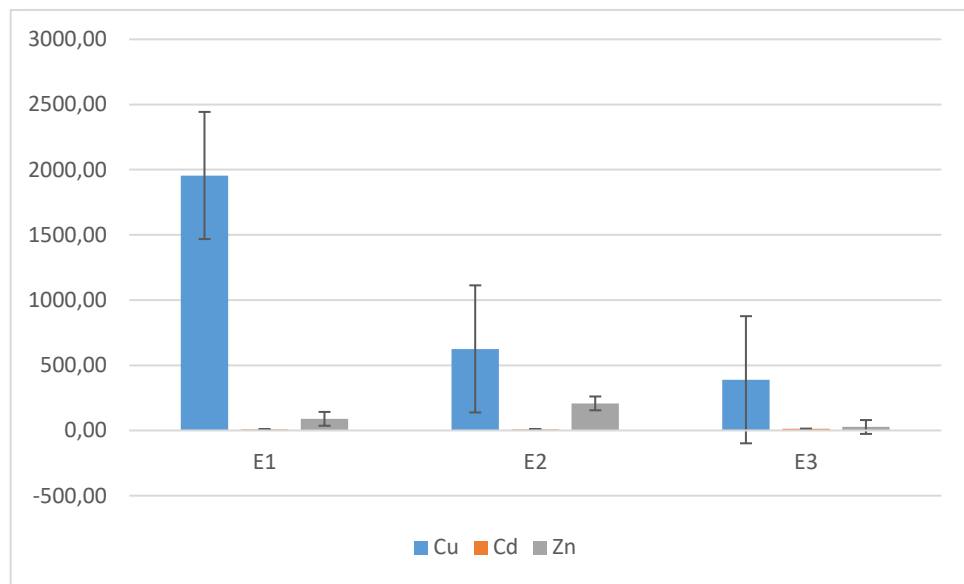
### III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 Análisis Químico de Cd, Cu y Zn en lapas (*Fissurella sp.*)

En las siguientes figuras, se muestran los resultados encontrados para la determinación de los metales Cd, Cu y Zn, en las estaciones muestreadas, E1 es la estación ubicada en la bahía de Chañaral, E2 es la estación ubicada en Caleta Palito y E3 es la estación ubicada en la Caleta Pan de Azúcar (ver Figura 5, materiales y métodos, página 18). Las concentraciones de los metales se expresan en  $\mu\text{g}$  de metal por gramo de tejido seco de lapa (Tabla 2, ANEXO I).

##### 3.1.1 Distribución y vías de incorporación de Cu, Cd y Zn en lapas de las diferentes estaciones analizadas

En la figura 7 es posible observar que, de las tres estaciones muestreadas, el metal que se encuentra en mayor concentración en el tejido de las lapas es el Cu, con promedios de  $1955,58 \mu\text{g/g}$  en la estación 1;  $625,36 \mu\text{g/g}$  en la estación 2 y  $388,98 \mu\text{g/g}$  en la estación 3, el rango de concentración de Cu del total de las mediciones fue entre  $105,41$  a  $2119,98 \mu\text{g/g}$ .



**Figura 8.** Promedio de concentración de Cd, Cu y Zn encontrados en los tejidos de lapas por estación de muestreo. (6 lapas en E2 y E3; 2 lapas en E1).

Se han reportado factores de bioconcentración (BCFs) de Cu de 28.200 para moluscos bivalvos de agua salada (US EPA, 1985). Una revisión de los datos de toxicidad aguda (Hall y col., 1998) revela que los efectos adversos de Cu en la biota acuática se han reportado en concentraciones tan bajas como 1,2 µg/g para bivalvos en agua salada. En algunos bivalvos, incluyendo *Mytilus edulis*, una mayor tolerancia al Cu (y otros metales) parece residir en la inducción de metalotioneínas de unión al Cu (Viarengo y col., 1984, 1989).

Luoma y col., (1983) demostraron que la tolerancia al Cu en las poblaciones de la almeja *Macoma balthica* y el crustáceo *Acartia clausi* de la Bahía de San Francisco varió hasta 10 veces en una distancia relativamente corta. Esto puede ser debido a la mortalidad larvaria selectiva junto con la mejora de los mecanismos fisiológicos de desintoxicación. Analizando esta situación con datos más cercanos, Valdés y col. (2014) en un estudio de metales pesados en sectores costeros de la bahía San Jorge (Antofagasta, Chile), no descartaron que el alto contenido de Cu en *Fissurella sp.* y otras especies de moluscos y crustáceos se deban, al menos en parte, a la activa incorporación de este metal en la hemocianina, pigmento respiratorio comúnmente encontrado en la sangre de muchas especies de estos grupos taxonómicos (Barwick y Maher 2003).

La concentración de Cd es baja en comparación a los otros dos metales para el total de las estaciones muestreadas (E1: 7,36 µg/g; E2: 8,81 µg/g y E3: 12,65 µg/g), con un rango de concentración total entre 2,84 µg/g a 21,28 µg/g. Sin embargo, este resultado no es menos importante, debido a la alta toxicidad de este elemento en el medio acuático (Adriano, 2001 a). Se han informado factores de bioconcentración de 2000 a 4000 para moluscos (Graney y col., 1983; Pesch & Stewart, 1980). La bioacumulación de Cd en los invertebrados es también una función de las especies y tejidos. Cabe destacar que se han informado efectos adversos a invertebrados acuáticos a concentraciones de Cd relativamente bajas (0,28 a 3,0 µg/g) (Chapman y col., 1980, Lawrence & Holoka, 1987, Marshall, 1978, Winner, 1988).

Una vez metabolizado, el Cd se encuentra como complejos de metalotioneína (Klaverkamp & Duncan, 1987; Olsson & Hogstrand, 1987; Taylor, 1983), la inducción de éstas en respuesta a Cd, está bien establecida y se cree que proporciona protección contra los efectos tóxicos del metal, al menos hasta que el sistema se satura (Langston

y Zhou, 1987; George, 1989). Shore y col., (1975) demostraron que había una correlación entre los niveles crecientes de Cd en la especie de lapa *Patella vulgata* a lo largo del Canal de Bristol Severn Estuary y una reducción en su capacidad para utilizar la glucosa.

En cuanto al Zn, se registraron concentraciones promedio de 89,23  $\mu\text{g/g}$  en la E1; 207,66  $\mu\text{g/g}$  en la E2 y 26,75  $\mu\text{g/g}$  en la E3, con un rango de concentraciones total, entre 23,12  $\mu\text{g/g}$  a 303,82  $\mu\text{g/g}$ . En este caso, se podría decir que la presencia de Zn no representa un problema tan grave como el Cu por su alta concentración o el Cd por su alta toxicidad, debido a que, a estas concentraciones, el Zn no se considera especialmente tóxico (Adriano, 2001 c). Algunos ejemplos apuntan a su toxicidad para algunas especies en concentraciones comúnmente observadas en agua intersticial de agua de mar y sedimento en estuarios (Bryan y col., 1980). Sin embargo, la mayoría de los ejemplos experimentales de toxicidad de Zn se refieren a concentraciones que se acercan y que a menudo superan con mucho 100  $\mu\text{g/L}$ . Se han encontrado niveles muy altos de Zn en las branquias de cangrejos tolerantes y pueden reflejar la participación de Zn-metalotioneína en la reducción de la tasa de captación y el aumento de la tasa de excreción a través de las branquias (Engel & Brouwer, 1984).

Por otro lado, Daka & Hawkins (2006), estudiaron los efectos del Cu, el Cd y el Pb en la bioacumulación de Zn en poblaciones de moluscos gastrópodos *Littorina saxatilis*, concluyendo que en presencia concurrente de Cu y Zn en solución; A altas concentraciones de Cu, se redujo la acumulación de Zn en *Littorina saxatilis* debido a respuestas fisiológicas y de comportamiento. Por otro lado, la acumulación de Zn parece ser mayor en soluciones de Zn en presencia de Cd que de Zn solo. Posiblemente, debido a la similitud química entre Cd y Zn, estos pueden compartir similares vías de absorción en organismos (Rainbow, 1997).

Se ha observado en muchas especies de moluscos, que la exposición al metal no esencial Cd no tuvo ningún efecto sobre la acumulación de Zn; Mientras que la exposición a Zn metálico esencial tuvo un efecto antagonista sobre la acumulación de Cd (Amiard-Triquet & Amiard, 1998). Si se considera esto último, se podría pensar que en la estación 2, la baja concentración de Zn en el tejido de la lapa *Fussurella sp.* pudo haber influido en un alza en la cantidad de Cd captada por estas lapas, al no tener mayor efecto antagónico de Zn (en comparación a las estaciones 1 y 3). Por esta razón, se

infiere que el Zn podría tener un efecto inhibitor de Cd en los tejidos de las lapas *Fissurella sp.*

Jacinto & Aguilar (2007), determinaron las concentraciones traza de Cd, Cu, Pb y Zn, en músculos y vísceras de la lapa *Fissurella sp.* entre otras especies marinas en Perú. En cuanto a la captación de metales en el medio marino, las lapas presentaron afinidades diversas en los órganos. El Cd se concentró principalmente en las vísceras, mientras que el Cu y Zn se fijó en mayor concentración en el músculo, afinidad que estaría asociada a sus necesidades metabólicas y a su capacidad de inducir a la síntesis de proteínas que fijan los metales.

Howard & Nickless (1977) estudiaron la acumulación de Cd, Zn y Cu por las lapas *Patella vulgata* y *Patella intermedia* mediante cromatografía de permeación de gel de extractos solubles en agua de mariscos provenientes de un medio ambiente contaminado. Observando que una proporción importante del Cd y Cu solubles en agua en estos moluscos está asociada con una proteína de masa molar de 10.000 daltons. Se presentan evidencias que apoyan la similitud de esta proteína con metalotioneína de mamíferos, la cual contenía sólo una pequeña proporción del Zn encontrado en las muestras. Con estos resultados concluyen que la habilidad de las lapas para almacenar el Cd y el Cu como complejos de metaloproteínas, puede ser responsable de la tolerancia de esta especie a los ambientes contaminados y ayuda a explicar los niveles excepcionalmente altos de metales traza acumulados por ellos en tales condiciones.

Por otro lado, al evaluar las concentraciones de metal en una única campaña de muestreo, no se está tomando en consideración factores que influyen en la disponibilidad y absorción de metales por parte de los organismos bioacumuladores, tales como la variación estacional. Miramand & Bentley 1992 determinaron concentraciones de ocho metales (Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb, Zn) en el alga marrón *Fucuss erratus* y la lapa *Patella vulgata* recogidas cada 2 semanas durante 13 meses en la costa rocosa de Goury cerca de la salida de la planta de reprocesamiento nuclear de La Hague (Francia). Donde determinaron que el Cd en la lapa *Patella Vulgata* poseía una variación estacional, alcanzando los valores máximos en los meses de invierno donde la temperatura del mar alcanza valores de 8 o 9°C. Mientras que Cu y Zn no mostraron una variación estacional notable. Hay que considerar que en Goury, las temperaturas mínimas en el mar alcanzan a los 8 o 9 °C en invierno y hasta 18°C en verano. La recolección de lapas para nuestro

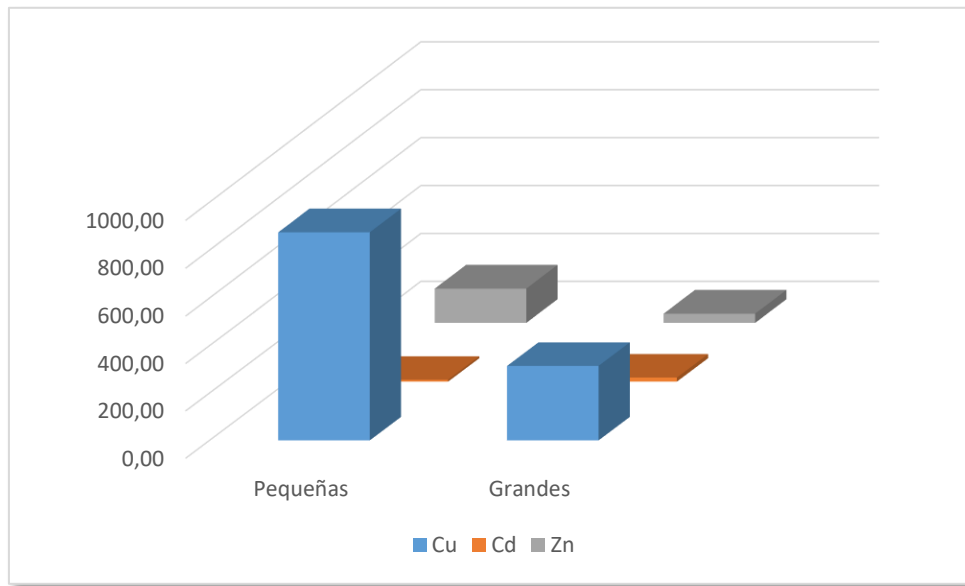
estudio se realizó a principios del mes de abril, donde la temperatura del mar en las costas de la comuna de Chañaral es aproximadamente de 18°C, mientras que las temperaturas del mar en invierno no bajan de los 14°C (Seatemperature.info, 2017).

De Gregori y col., 1996 determinaron las concentraciones de Cd, Cu y Zn en muestras de mejillones y sedimentos recolectadas en ocho zonas costeras geográficas diferentes de Chile. En Chañaral ocurrieron las concentraciones de Cu más altas en el mejillón *P. purpuratus*, estos sitios también tuvieron las mayores concentraciones de Cu en los sedimentos, donde se observaron cambios muy significativos, en invierno y primavera las concentraciones fueron alrededor de 100 µg/g y en verano y otoño los valores caen a 10 y 4 µg/g, respectivamente. En cuanto a las concentraciones de Cd en los sedimentos de Chañaral no se observaron variaciones temporales entre los sedimentos recogidos en invierno y primavera, pero estos valores fueron significativamente inferiores a los de verano y otoño. En las concentraciones de Zn en sedimento, no se observó una variación extremadamente estacional como en Cu.

El norte de Chile se caracteriza por poseer cambios estacionales poco marcados, pero aun así estos cambios influyen en gran medida en la biodisponibilidad de dos de los metales analizados en este estudio. Por esta razón, habría que investigar cómo afecta la variación de temperatura (a causa de los cambios estacionales) en la absorción de metales pesados directamente en las lapas *Fissurella sp.* para poder utilizar correctamente este molusco como un bioindicador fidedigno de la magnitud de la contaminación de estos sitios de particular interés.

### **3.1.2 Distribución de los metales Cu, Cd y Zn según el tamaño promedio de lapas analizadas.**

En la figura 8 se observa en la especie de lapa *Fissurella*, una disminución en la concentración de Cu y Zn conforme aumenta el tamaño. Por otro lado, el Cd se encuentra ligeramente menos concentrado en las lapas pequeñas (tabla 2, ANEXO I).



**Figura 9.** Concentración de Cd, Cu y Zn en los tejidos de lapas *Fissurella sp.* grandes (9,19 g a 16,12 g) y pequeñas (1,06 g a 2,77 g).

Un paso importante hacia la evaluación y comparación de la contaminación de metales traza en diferentes áreas se logra utilizando la relación entre el contenido de metal y el peso corporal de los moluscos (Cossa y col., 1979), ya que el tamaño del cuerpo es un parámetro que puede influir en las concentraciones de metal en los tejidos y, si se producen variaciones significativas debido al tamaño, es evidente que es un factor que se debe tener en cuenta en estos contextos. Boyden (1974, 1977), mostró que el coeficiente de regresión para esta relación era generalmente constante para un metal dado y una especie de molusco dada.

En la especie de lapa *Patella intermedia* Jeffreys, las concentraciones de Cu y de Zn fueron mayores en los individuos más pequeños, mientras que en la lapa *Patella vulgata*, se registran las concentraciones más altas de Cd en los individuos más grandes. Por lo tanto, la acumulación de Cd sería considerablemente mayor en individuos más grandes de ambientes contaminados. Y en cuanto al Zn, sugiere que los moluscos pueden controlarse al menos parcialmente y no depender enteramente de las concentraciones ambientales de este metal.

Los resultados obtenidos en las lapas analizadas en la zona costera de Chañaral, concuerdan con los análisis realizados por Boyden (1974, 1977), a pesar de ser especies distintas del molusco. Es decir, el tamaño de la lapa influye en la captación de metal en



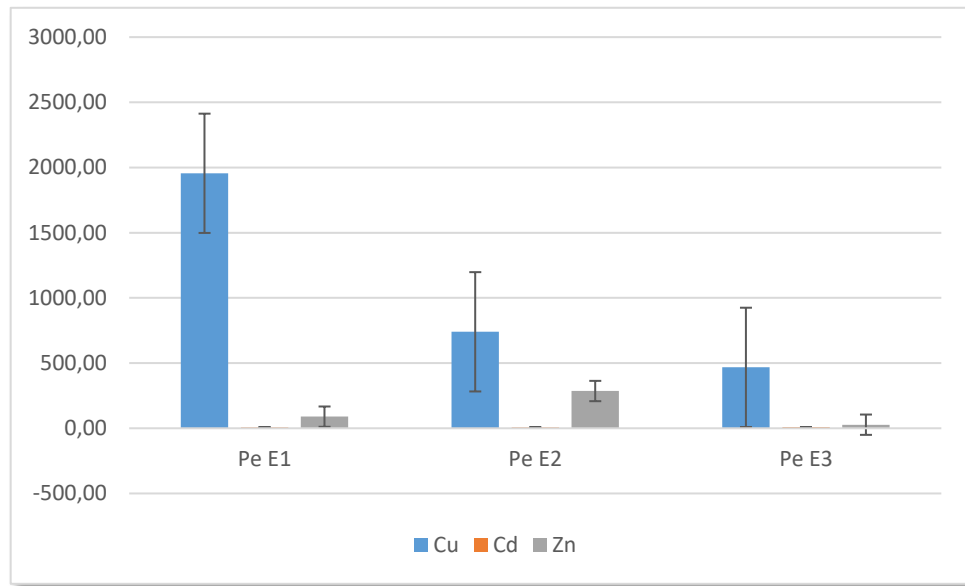
sus tejidos, pero no se descarta que esta variación sea proporcional a la cantidad de metales disponibles en el medio donde habitan.

Por otra parte, el tamaño es un factor importante debido a su relación con la madurez de los organismos analizados. Cossa y col. (1979), observaron que los coeficientes de regresión son considerablemente más variables cuando los moluscos (mejillones) entran en la edad adulta y que las variaciones están probablemente relacionadas con cambios bioquímicos que ocurren durante el ciclo sexual. Se sabe que la gametogénesis está asociada con grandes variaciones en las cantidades relativas de proteínas, lípidos y glucógeno tanto en el propio tejido gonadal como en el tejido conjuntivo asociado (Lubet, 1959).

En el caso del Cd, estos cambios afectan indudablemente en sus concentraciones dentro del organismo, ya que su afinidad por sustancias bioquímicas difiere marcadamente de un compuesto a otro (Österberg, 1974). Por lo tanto, en este ámbito, se puede lograr una mejora sustancial de la aplicabilidad de los moluscos para la vigilancia de la contaminación marina utilizando solamente animales inmaduros. Esto debería reducir la influencia del metabolismo sobre el contenido de metal de los moluscos y dar así una indicación más precisa de los niveles de contaminación ambiental.

### **3.1.3 Distribución de Cu, Cd y Zn en lapas considerando los diferentes sitios de muestreo**

En esta sección se comparan las concentraciones de cada metal considerando solamente las lapas de tamaño pequeño, con el fin de poder eliminar en algún grado la influencia que pueda producir el tamaño y así distinguir de mejor forma la distribución de las concentraciones de metal obtenidas en cada estación muestreada.



**Figura 10.** Concentración de Cd, Cu y Zn encontrados en los tejidos de dos lapas pequeñas (1,06 g a 2,77 g) por estación de muestreo.

En la figura 9 se puede observar que la mayor parte de la contaminación por Cu es en las lapas recolectadas en las playas de Chañaral (estación 1) con una concentración de 1955,58 µg/g, a este resultado, le sigue Caleta Palito (740,00 µg/g), quedando en último lugar, la caleta Pan de Azúcar (467,05 µg/g).

Castilla (1983), demostró la presencia de molibdenita y calcopirita en muestras de sedimento en la bahía de Chañaral y Caleta Palito, confirmando que los sedimentos de la playa están fuertemente relacionados con los relaves de cobre. Sin embargo, al norte del área contaminada, Caleta Coquimbo y Puerto Pan de Azúcar, no observaron mayores rastros de contaminación en esos años.

Lee y col., 2002 estudiaron la distribución de diversos metales en la zona costera de la comuna de Chañaral, determinaron que además de otros dos sitios ubicados en esta zona, la playa de la bahía de Chañaral es un sitio compuesto 100% de los relaves que se han depositado en la zona intertidal. Los resultados de la prueba de Spearman indicaron que hubo una alta correlación entre los relaves y el Cu tanto en el agua en los poros de los sedimentos como en el agua de mar. Esto último, se explica mejor en un estudio realizado por Ramírez y col. (2005) en el cual se indica que en climas donde la evaporación excede las precipitaciones, como en el caso de El Salvador, la dirección del

flujo de agua es hacia arriba a través de las fuerzas capilares. Este fenómeno transfiere los elementos movilizados a la parte superior de los relaves en condiciones oxidantes para que puedan convertirse en forma soluble en agua y trasladarse a la costa durante las precipitaciones estacionalmente fuertes (Dold & Fontbotè, 2001). En definitiva, los propios relaves, además de su impacto físico, son también las fuentes primarias de Cu en el agua de mar adyacente a los sitios analizados.

En cuanto al Zn, se observa una mayor concentración en las lapas obtenidas en la Caleta Palito (285,76 µg/g), seguido de Chañaral (89,23 µg/g) y finalmente Pan de Azúcar (27,47 µg/g). Según el estudio de Lee y col., 2002, las concentraciones más altas de Zn ocurren en la bahía de Chañaral, con una disminución constante de la concentración que se mueve hacia el norte. La única fuente obvia de metales cerca de ese sitio es la actividad portuaria en Barquito, situada a un kilómetro al sur de Chañaral. Sin embargo, en las muestras de agua de mar, además del Cu, el Zn mostró una alta correlación con los relaves. Por lo que, según los resultados de este estudio, las elevadas concentraciones de Zn en Caleta Palito probablemente están asociadas con la descarga de "aguas claras" que se depositan en ese punto.

En cuanto a los estudios de este metal en moluscos, Boyden (1977) investigó que, en un ambiente con concentraciones más bajas de Zn, las lapas *P. vulgata* acumulan mayor cantidad de este metal en su tejido. Una observación similar se ha hecho para el Zn en las ostras (Chipman y col., 1958; Preston, 1966), lo cual sugiere que las concentraciones de Zn en los moluscos pueden controlarse al menos parcialmente y no depender enteramente de las concentraciones ambientales.

Finalmente, el Cd se encuentra en muy baja concentración en las tres estaciones respecto a los otros dos metales (E1: 7,36 µg/g; E2: 6,14 µg/g y E3: 8,96 µg/g), sin embargo, su presencia es muy relevante por lo ya mencionado anteriormente. Una de las principales fuentes de Cd la constituye la minería y la quema de combustibles fósiles (Duruibe y col., 2005).

Espejo (2013) estudió los metales contenidos en las fecas de los pingüinos de Humboldt que se asientan cada año en la isla Pan de Azúcar, donde los mayores niveles de Cd detectados fueron asociados a los relaves mineros que se han depositado en Bahía Chañaral, a la presencia de asentamientos humanos en los alrededores, a la

actividad portuaria, a la existencia de una planta de ácido sulfúrico, y al flujo de transporte de vehículos pesados derivados de la minería.

Según lo dicho por Marín Guirao (2007), en un ambiente contaminado por residuos mineros, el Zn y el Cd presentan elevadas concentraciones en estado disuelto siendo los metales más móviles de los residuos, frente al Cu que se encuentran principalmente en estado particulado. Al entrar al mar, los metales disueltos son rápidamente eliminados de la columna de agua debido principalmente a incremento en la salinidad y pH, afectando a las zonas adyacentes a la desembocadura de relaves. Sin embargo, los metales en estado particulado (Cu) se mantienen durante más tiempo en el medio acuático afectando a un área mayor. Con la descarga de residuos mineros, las aguas de la costa se vuelven tóxicas. La toxicidad desaparece rápidamente en las zonas que no se encuentren directamente influenciadas, mientras que la zona adyacente a la desembocadura de las descargas mineras esta se mantiene durante varios días y parece depender de las condiciones climáticas.

El gran desarrollo de la minería en Chile ha impactado negativamente en los ecosistemas costeros por las altas concentraciones de metales producto de los relaves mineros (Salamanca y col., 2004; Ramírez y col., 2005; Stauber y col., 2005). En el norte de Chile muchas de las actividades industriales descargan sus desechos al mar, elevando la concentración de algunas sustancias a niveles peligrosos para la salud de los ecosistemas (Vermeer y Castilla, 1991; Zúñiga, 1998; Cortés y Luna-Jorquera, 2011).

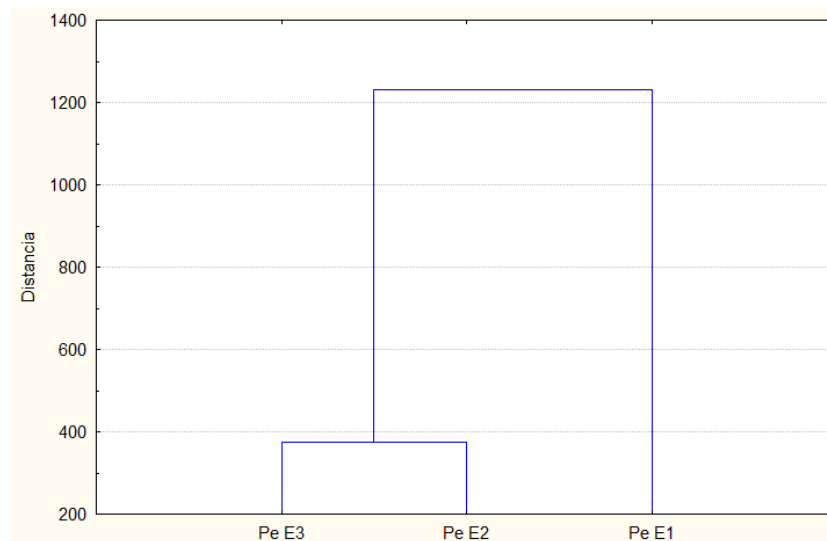
Sin embargo, como resultado de la naturaleza desértica de la comuna de Chañaral, la densidad de población es baja, no hay actividad agrícola y la única actividad industrial es la minería. Por lo tanto, la única fuente significativa de contaminación en este ambiente costal es la derivada de las actividades mineras, proporcionando una oportunidad única para estudiar los efectos de la eliminación de residuos y la concentración elevada de metales en ausencia de los efectos de confusión de otros grupos de contaminantes. Las concentraciones de Cu, Cd y Zn de agua de mar pueden asociarse visualmente con la distribución esperada del impacto de los relaves (Lee y col., 2002).

### 3.2 Análisis estadístico de Cd, Cu y Zn en lapas (*Fissurella sp.*)

En esta sección se realizó un análisis de Conglomerado (Cluster) con el fin de tener una imagen más clara de las zonas más afectadas por la contaminación de metales según su bioacumulación en el tejido de la lapa *Fissurella sp.* pequeñas. Por otro lado, el análisis de los componentes principales busca establecer el elemento metálico más significativo (Cu, Cd o Zn) que induce a que existan diferencias de concentración observados en el análisis Cluster.

#### 3.2.1 Análisis de Conglomerados (Cluster)

En esta sección se realizó un análisis de conglomerados solo de lapas pequeñas, este tamaño se escogió por la misma razón que en la sección 3.1.3. En la figura 10, se observa que existe una amplia diferencia en la concentración del total de metales (Cd, Cu y Zn) analizados en el tejido blando de la lapa *Fissurella sp.* recolectadas en la bahía de Chañaral (estación 1) con respecto a las lapas recolectadas en la estación 2 y 3, correspondientes a Caleta Palito y la Caleta Pan de azúcar. Es decir, existe un factor en el medio marino de las cercanías de la bahía de Chañaral que induce a que la tasa de captación de metales en los tejidos de las lapas recolectadas en esta estación, difiera de las otras dos estaciones.



**Figura 11.** Cluster de lapas pequeñas (1,06 g a 2,77 g) en las estaciones 1, 2 y 3.

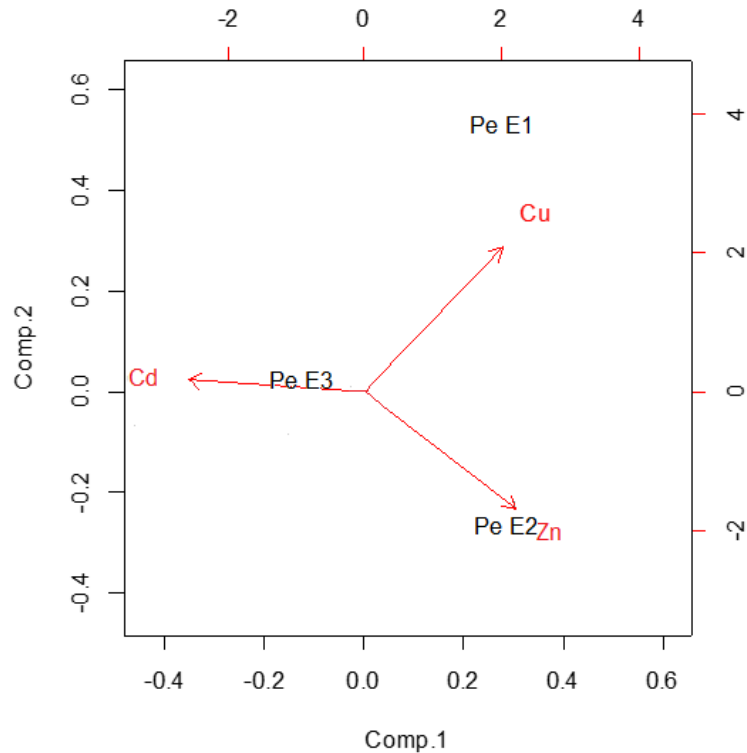
Este factor que hace la diferencia, podría tratarse de la biodisponibilidad de estos metales en el medio, ya que, en cuanto a la distribución de los metales en los sedimentos, Ramírez y col. (2005) observaron que en general, las muestras recogidas al norte del punto de descarga actual (Caleta Palito) tienen las concentraciones más altas de todos los elementos (Cd, Cu y Zn). Al alejarse de esta zona, los niveles de metales pesados disminuyen progresivamente, alcanzando valores muy bajos en Pan de Azúcar en el norte. Por lo tanto, esta característica confirma el efecto de los residuos mineros.

Por otro lado, el aumento de la concentración de metales y la formación de una nueva playa en la zona al norte del punto de descarga sugiere que la principal corriente de la costa se dirige hacia el norte. Sin embargo, muestras de sedimentos con un alto contenido de Cu se recogieron al sur del punto de descarga actual, lo que sugiere que la fracción fina ( $< 63 \mu\text{m}$ ), cuya superficie específica es mayor que en la fracción gruesa del sedimento, lo cual facilita los procesos de absorción, está probablemente compuesta de sedimentos provenientes de la mina de El Salvador, descargados en la playa arenosa de la bahía de Chañaral hasta el año 1975. La ausencia de fracción fina en los sedimentos muestreados al norte de Caleta Palito podría explicarse por las diferencias en los procedimientos de tratamiento y eliminación entre los vertederos de Bahía de Chañaral y Caleta Palito.

### **3.2.2 Análisis de Componentes Principales (ACP)**

En la figura 11 se reconoce la influencia de los metales que más afectan a las lapas pequeñas analizadas en este estudio. En este caso, se observa que Cu y Zn son positivos para el componente 1 casi en la misma proporción, mientras que Cu es mucho más positivo que Cd para el componente 2. En cuanto a las lapas pequeñas analizadas en la estación 1, estas se encuentran en el cuadrante positivo para ambos componentes, lo cual quiere decir que las lapas de esta estación se caracterizan por una mayor cantidad de Cu y Zn, como también una pequeña cantidad de Cd, siendo, por tanto, las lapas más afectadas por la contaminación de estos tres metales, en comparación a las demás. En cuanto a las lapas pequeñas de la estación 2 se encuentran afectadas principalmente por Cu y Zn, pero no se ven mayormente influenciadas por Cd. Caso contrario ocurre con las lapas pequeñas de la estación 3, las cuales se ven levemente

perjudicadas por Cd y menos afectadas por Cu y Zn que las lapas de las otras estaciones.



**Figura 12.** Análisis de los componentes principales del promedio de tamaño pequeño (Pe) de las tres estaciones muestreadas (E1, E2 y E3).

En definitiva, una vez más se demuestra que la mayor absorción de metales Cu, Cd y Zn por parte de las lapas *Fussurella sp.* se produce en la bahía de Chañaral (estación 1). Castilla & Nealler (1978) observaron que la extinción de luz a 0,6 m de profundidad en Caleta Palito refleja la abundancia de materia en suspensión sólida producida por las descargas de residuos mineros.

Se observó una penetrabilidad máxima de la luz en Puerto Pan de Azúcar (área de control) y que otros puntos cercanos al vertedero (Caleta Agua Hedionda y Punta Achurra) mostraron importantes reducciones en la penetrabilidad. Mientras que los bajos valores de penetrabilidad de la luz en la Bahía de Chañaral reflejan la suspensión de sedimentos en acumulaciones pasadas y no debidas a la descarga del vertedero actual.

Cabe decir que la contaminación por relaves sin tratamiento previo a través del río Salado anterior al año 1975, causó un daño ambiental que conserva sus graves consecuencias hasta el día de hoy, las cuales se ven reflejadas en este estudio. Sin embargo, los daños ambientales que todavía se están produciendo con el vertimiento de “aguas claras” en el sector de Caleta Palito, a pesar de ser mucho menos contaminantes, no son menos importantes, sobre todo por su cercanía a la zona marina correspondiente al territorio del Parque Nacional Pan de Azúcar.



#### IV. CONCLUSIONES

En este trabajo se ha podido constatar que:

No cabe duda que la costa de la comuna de Chañaral a través del ducto de relaves desaguados hacia el mar anterior al año 1975 y los desechos tratados que se siguen liberando en la zona de Caleta Palito, han generado una importante contaminación oceánica en el sector, la cual ha perjudicado enormemente a la biodiversidad marina y a la población en general, afectando sus medios de producción local, el estado de salud del ambiente y la salud de la población de Chañaral (Castilla & Nealler, 1978).

- La zona costera de la comuna de Chañaral, posee grandes concentraciones de metales pesados, en especial Cu, los cuales mediante una distribución paulatina van disminuyendo a medida que se van alejando del punto de emisión hacia el norte, logrando llegar hasta la caleta Pan de Azúcar.
- Existen diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de concentración de Cd, Cu y Zn en las lapas *Fissurella sp.* que habitan en la bahía de Chañaral, Caleta Palito y en la Caleta Pan de Azúcar. Destacándose una importante diferencia entre la bahía de Chañaral de las otras dos estaciones muestreadas, debido al grave daño ambiental que sufrió esta zona anterior al año 1975.
- El tamaño es un factor de gran relevancia en la incorporación de metales en los tejidos biológicos de la lapa *Fissurella sp.* ya que los resultados de este estudio concuerdan con las publicaciones de Boyden (1977), estableciendo una diferencia en la captación de metales del medio según la masa del molusco, además de los cambios físicos asociados a las épocas reproductivas que sufren estos organismos luego de la madurez, por lo cual se recomienda utilizar solo ejemplares pequeños para hacer comparaciones de sitios contaminados con una menor incertidumbre.

Por otro lado, cuando se trata de sitios muy contaminados, la abundancia de especies es escasa debido a que las condiciones en las que se encuentran las lapas no son

las mejores, existiendo una alta mortalidad, por lo que la recolección de una cantidad suficiente de lapas pequeñas puede resultar muy dificultosa.

Finalmente, se hace necesario realizar monitoreos continuos en las zonas analizadas, tanto de los organismos como del medio, para poder estimar el factor de bioconcentración que se produce en las especies que sobreviven en estos ambientes.

## V. REFERENCIAS

- Adams, S. M. (2003). Establishing causality between environmental stressors and effect on aquatic ecosystems. *Hum. Ecol. Risk Assess.* **9(1)**: 17-35.
- Adriano, D. C. (2001 a). Cadmium. In Trace elements in terrestrial environments. (pp. 263-214) Springer (ed), New York.
- Adriano, D. C. (2001 b). Copper. In Trace elem. in terrestrial environments (pp. 499-546). Springer (ed), New York.
- Adriano, D. C. (2001 c). Zinc. In Trace elements in terrestrial environments. (pp. 625-675) Springer (ed), New York.
- Ahn, I. Y., Kim, K. W., & Choi, H. J. (2002). A baseline study on metal concentrations in the Antarctic limpet *Nacella concinna* (Gastropoda: Patellidae) on King George Island: variations with sex and body parts. *Mar. pollut. bull.* **44(5)**: 424-431.
- Amiard-Triquet, C., & Amiard, J. C. (1998). Influence of ecological factors on accumulation of metal mixtures. In *Metal metabolism in aquatic environments* (pp. 351-386). Springer (ed) US.
- Arndt U., W. Nobel, B. Schweizer (1987). Bioindikatoren: Möglichkeiten, Grenzen und neue Erkenntnisse. Eugen Ulmer (ed), Verlag Stuttgart. pp. 388
- Arnot, J. A., & Gobas, F. A. (2006). A review of bioconcentration factor (BCF) and bioaccumulation factor (BAF) assessments for organic chemicals in aquatic organisms. *Environ. Rev.* **14(4)**: 257-297.
- Azcue, J. M. (1999). Environmental impacts of mining activities: emphasis on mitigation and remedial measures. Springer (ed), Berlín, Heidenberg. pp. 300
- Banco Central (2004). Anuario de Cuentas Nacionales. Banco Central de Chile. Santiago, Chile.
- Baqueiro-Cárdenas, E. R., Borabe, L., Goldaracena-Islas, C. G., & Rodríguez-Navarro, J. (2007). Los moluscos y la contaminación: Una revisión. *Rev. mex. biodivers.* **78**: 1-7.

- Barwick M, Maher W. (2003). Biotransference and biomagnification of selenium copper, cadmium, zinc, arsenic and lead in a temperate seagrass ecosystem from Lake Macquarie Estuary, NSW, Australia. *Mar. Environ. Res.* **56**: 471–502.
- Bebianno, M.J., and W.J. Langston (1998). Cadmium and metallothionein turnover in different tissues of the gastropod *Littorina littorea*. *Talanta*, **46(2)**: 301-313.
- Begum, A., Amin, N., Kaneko, S., Ohta, K. (2005). Selected elemental composition of the muscle tissue of three species of fish, *Tilapia nilotica*, *Cirrhina mrigala* and *Clarius batrachus*, from the fresh water Dhanmondi Lake in Bangladesh. *Food. Chem.* **93 (3)**: 439-443.
- Bowers JM, PJ Barry & DJ MacGregor (1987). Distribution and cycling of cadmium in the environment. En: Nriagu JO, Series (ed). *Advances in Environmental Science and Technology*. Vol. 19. Nriagu JO & JB Sprague (eds), Cadmium in the aquatic environment. John Wiley & Sons Inc., Nueva York. **1**: 1-18.
- Bowers, J. M., Barry, P. J., & MacGregor, D. J. (1987). Distribution and cycling of cadmium in the environment. *Adv. Environ. Sci. Technol.* **19**: 1-18.
- Bioacumulación. (2011). [Blog] Al rescate de la biosfera. Disponible en: <http://blog.espol.edu.ec/galletasdearazacsect/2011/11/15/bioacumulacion/> [Acceso 4 Feb. 2017].
- Bore, R., Pizarro, A., & Cabrera Fajardo, N. (1986). Diagnóstico de la contaminación marina en Chile. En *Encuentro Científico sobre el Medio Ambiente*, **2**: 18-23.
- Bowen, H. J. M. (1966). Trace elements in biochemistry. Academic Press (ed), New York. pp. 301
- Boyden, C. R. (1974). Trace element content and body size in molluscs. *Nature*, **251(5473)**: 311-314.
- Boyden, C. R. (1977). Effect of size upon metal content of shellfish. *J. Mar. Biol. Assoc. UK.* **57(3)**: 675-714.
- Brooks, R.R. & Rumsby, M.G. (1965). The biochemistry of trace element uptake by some New Zealand bivalves. *Limnol. Oceanog.* **10(4)**: 521-527.

- Bruland, K. W., J. R. Donat & D. A. Hutchins (1991). Interactive influences of bioactive trace metals on biological production in oceanic waters. *Limnol. Oceanogr.* **36**: 1555-1577.
- Bryan, G.W., Langston, W.J. and Hummerstone, L.G. (1980). The use of biological indicators of heavy metal contamination in estuaries, with special reference to an assessment of the biological availability of metals in estuarine sediments from South-West Britain. *Mar. Biol. Assoc. UK.* **1**: 73.
- Bustamante, P., S. Grigioni, R. Boucher-Rodoni, F. Caurant & P. Miramand (2000). Bioaccumulation of 12 Trace Elements in the Tissues of the Nautilus *Nautilus macromphalus* from New Caledonia. *Mar. Poll. Bull.* **40**: 688-696.
- Camus, P., & Hajek, E. R. (1998). Historia ambiental de Chile. Universidad Católica de Chile (ed), Santiago de Chile. pp. 138
- Capó Martí M.A. (1998). Incidencia Ecotoxicológica de los Metales Pesados en Poblaciones Humanas. Vol. XX. Ciencia Veterinarias (ed), Madrid. pp. 123
- Castilla, J. C., & Nealler, E. (1978). Marine environmental impact due to mining activities of El Salvador copper mine, Chile. *Mar. Poll. Bull.* **9(3)**: 67-70.
- Castilla, J. C. (1983). Environmental impact in sandy beaches of copper mine tailings at Chañaral, Chile. *Mar. Poll. Bull.* **14(12)**: 459-464.
- Chapman, G. A., Ota, S., & Recht, F. (1980). Effects of water hardness on the toxicity of metals to *Daphnia magna*. US Environmental Protection Agency. Corvallis, OR. pp. 28
- Chapman, P. M., Wang, F., Janssen, C. R., Goulet, R. R., Kamunde, C. N. (2003). Conducting ecological risk assessments of inorganic metals and metalloids: current status. *Hum. Ecol. Risk Assess.* **9**: 641-697.
- Chipman, W. A., Price, T. R. & Price, T. J. (1958). Uptake and accumulation of radioactive zinc by marine plankton, fish and shellfish. *Fish. B-NOAA.* **58**: 279-292.
- Cortés, M. y G. Luna-Jorquera (2011). Efecto de la edad y la localidad en la concentración e cadmio y cobre en el hígado de la gaviota dominicana *Larus dominicanus*. *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.* **46 (2)**: 287-292.

- Cossa, D., Bourget, E. and Piuze, J. (1979). Sexual maturation as a source of variation in the relationship between cadmium concentration and body weight of *Mytilus edulis* (L.). *Mar. Pollut. Bull.* **10**: 174–176.
- Daka, E. R., & Hawkins, S. J. (2006). Interactive effects of copper, cadmium and lead on zinc accumulation in the gastropod mollusc *Littorina saxatilis*. *Water Air Soil Poll.* **171(1-4)**: 19-28.
- Davies, M. S., Proudlock, D. J., & Mistry, A. (2005). Metal Concentrations in the Radula of the Common Limpet, *Patella vulgata* L., from 10 Sites in the UK. *Ecotoxicology*, **14(4)**: 465-475.
- De Gregori, I., Pinochet, H., Gras, N., & Muñoz, L. (1996). Variability of cadmium, copper and zinc levels in mollusks and associated sediments from Chile. *Environ. Poll.* **92(3)**: 359-368.
- Deb, S. C., & Fukushima, T. (1999). Metals in aquatic ecosystems: mechanisms of uptake, accumulation and release-Ecotoxicological perspectives. *Int. J. Environ. Stud.* **56(3)**: 385-417.
- Dold, B., & Fontboté, L. (2001). Element cycling and secondary mineralogy in porphyry copper tailings as a function of climate, primary mineralogy, and mineral processing. *J. Geochem. Explor.* **74(1)**: 3-55.
- Duan, Y., Guttman, S.I., Oris, J.T., Bailer, A.J. (2000). Genotype and toxicity relationships among *Hyalella azteca*: I. Acute exposed to metals or low pH. *Environ. Tox. Chem.* **19**: 1414-1421.
- Duruibe, J. O., Ogwuegbu, M. O. C., & Egwurugwu, J. N. (2007). Heavy metal pollution and human biotoxic effects. *International Journal of Physical Sciences*, **2(5)**, 112-118.
- Eisler, R. (1993). Zinc hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. *U.S. Fish Wildl. Serv. Biol. Rep.* **10**:3-106
- EMCBC. (1996). The perpetual pollution machine. Acid mine drainage. BC Mining Control, Canadá. pp. 1-6
- Link, D. D., Walter, P. J., & Kingston, H. M. (1999). Wastewater standards and extraction chemistry in validation of microwave-assisted EPA method 3015A. *Environ. Sci. Tech.* **33(14)**: 2469-2473.

- Espejo, W., (2013). Niveles de metales pesados y porfirinas en excretas de colonias de pingüinos de Humboldt (*Spheniscus humboldti*) en el litoral del norte chileno. Memoria de título. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Concepción. pp. 44
- Fernandez, N., & Solano, F. (2005). Índices de calidad (ICAs) y de contaminación (ICOs) del agua de importancia mundial. *Indices de Calidad y de Contaminación del Agua*, **116**: 43-53.
- Fox, G.A. (1991). Practical causal interference for ecopidemiologists, *J. Toxicol. Environ. Health* **33**: 359-373.
- Frazier, J.M., George, S.G., Overnell, J., Coombs, T.L. and Kagi, J. (1985). Characterization of two molecular weight classes of cadmium binding proteins from the mussel *Mytilus edulis* (L.). *Comp. Biochem. Physiol.* **80**: 257–262.
- French, P. (1993). Post-industrial pollutant levels in contemporary Sverm estuary intertidal sediments compared to pre-industrial levels. *Mar. Poll. Bull.* **26**:30-35.
- Gadh, R., S. Tandon, R. Mathur & OV. Singh (1993). Speciation of metals in Yamuna river sediments. *Sci. Total. Al. Environm.* **136 (3)**: 229-242.
- García L. y Rubiano O. (1984). Comunidades de líquenes como indicadores de niveles de calidad del aire en Colombia. *Cont. Amb.* **8**: 73-90.
- Garrelss, M. & C. Christ (1990). Solutions, minerals and equilibria. 450 pp., Jones and Bartlett, Boston, Mass.
- Geiré, R., Sidenko. N.V., Lazareva, E.V. (2003). The role of secondary minerals in controlling the migration of arsenic and metals from high-sulfide wastes (Berikul gold mine, Siberia). *Appl. Geochem.* **18**: 1347-1359
- George, S. G. (1989). Cadmium effects on plaice liver xenobiotic and metal detoxication systems: dose-response. *Aquat. Toxicol.* **15**: 303-10.
- Gil, M. N., Torres, A., Harvey, M., & Esteves, J. L. (2006). Metales pesados en organismos marinos de la zona costera de la Patagonia argentina continental. *Rev. Biol. Mar. Oceanog.* **41(2)**: 167-176.
- Giordano, P.L. Musmeci, L. Ciaralli, P. Vernillo, J. Chirico, N. Piccioni & S. Costatini (1992). Total content and sequential extractions of Hg, Cd and Pb in coastal sediments. *Mar. Poll. Bull.* **24**: 350-357.

- González-Dávila, M. (1995). The role of phytoplankton cells on the control of heavy metal concentration in seawater. *Mar. Chem.* **48**: 215-236.
- Graney, R. L., Cherry, D. S., & Cairns, J. (1983). Heavy metal indicator potential of the Asiatic clam (*Corbicula fluminea*) in artificial stream systems. *Hydrobiologia*, **102(2)**: 81-88.
- Hall, L. W., Scott, M. C., & Killen, W. D. (1998). Ecological risk assessment of copper and cadmium in surface waters of Chesapeake Bay watershed. *Environ. Toxicol. Chem.* **17(6)**: 1172-1189.
- His, E., Heyvang, I., Geffard, O., De Montaudouin, X. (1999). A comparison between oyster (*Crassostrea gigas*) and sea urchin (*paracentrotus lividus*) larval bioassays for toxicological studies. *Water Res.* **33**: 1706-1718.
- Hogstrand, C., Wilson, R., Polgar, D., Wood, C. (1994). Effects of zinc on the kinetics of branchial calcium uptake in freshwater rainbow trout during adaptation to waterborne zinc. *J. Exper. Biol.* **186(1)**: 55-73.
- Howard, A., & Nickless, G. (1977). Heavy metal complexation in polluted molluscs I. Limpets (*Patella vulgata* and *Patella intermedia*). *Chem-Biol. Interact.* **16(1)**: 107-114.
- Isern Roselló, R., & Martínez Planas, M. D. M. (2011). Estudio experimental de la movilidad de metales pesados en sedimentos de la cuenca del Jequetepeque, Perú. Universidad Politécnica de Catalunya. (<http://hdl.handle.net/2099.1/12248>)
- Jacinto, M. E., & Aguilar, S. (2007). Concentraciones traza de metales en especies marinas de la bahía de Huarmey, Ancash, Perú. *Rev. Peru. Biol.* **14(2)**: 307-312.
- Jacob, D.L., Otte, M.L. (2004). Long-term effects of submerged and wetland vegetation on metals in a 90-year old abandoned Pb-Zn mine tailings pond. *Environ. Poll.* **130**: 337-345
- Janssen, C. R., Heijerick, D.G., De Schampelaere, K. A. C. (2003). Environmental risk assessment of metals: tools for incorporating bioavailability. *Environ. Int.* **983**: 1-8.
- Klaverkamp, J. F., & Duncan, D. A. (1987). Acclimation to cadmium toxicity by white suckers: cadmium binding capacity and metal distribution in gill and liver cytosol. *Environ. Toxicol. Chem.* **6(4)**: 275-289.



- Landing, W., Lyons, W., Orem, W. (1992). Nutrient cycling and the biochemistry of Mn, Fe, and Zn in jelly fish; lake, Palao. *Limnol. Oceanograf.* **36**: 515-525.
- Landrum, P., W. Hayton, H. Lee II, McCarty, D. McKay & J. McKim (1994). Synopsis of discussion session on the kinetics behind environmental bioavailability. En: Hamelink, J., P. Ladrum, H. Bergaman & W. Benson (eds.). Boca Raton, Florida. 221-230.
- Langston, W. J. & Zhou, M. (1987). Cadmium accumulation, distribution and metabolism in the gastropod *Littorina littorea*: the role of metal-binding proteins. *J. Mar. Biol. Ass. UK.* **67**: 585-601.
- Lares, M.L. and Orians, K.S. (1997). Natural Cd and Pb variations in *Mytilus californianus* during the upwelling season. *Sci. Total Environ.* **197**: 177–195.
- Latouche, Y.D. and Mix, M.C. (1982). The effect of depuration, size and sex on trace metal levels in bay mussels. *Mar. Pollut. Bull.* **13(1)**: 27–29.
- Lawrence, S. G., & Holoka, M. H. (1987). Effects of low concentrations of cadmium on the crustacean zooplankton community of an artificially acidified lake. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **44(S1)**: s163-s172.
- Lee, M. R., Correa, J. A., & Castilla, J. C. (2001). An assessment of the potential use of the nematode to copepod ratio in the monitoring of metals pollution. The Chañaral case. *Mar. Poll. Bull.* **42(8)**: 696-701.
- Lee, M. R., Correa, J. A., & Zhang, H. (2002). Effective metal concentrations in porewater and seawater labile metal concentrations associated with copper mine tailings disposal into the coastal waters of the Atacama region of northern Chile. *Mar. Poll. Bull.* **44(9)**: 956-961.
- Lijteroff, R., Lima, L., & Prieri, B. (2009). Uso de líquenes como bioindicadores de contaminación atmosférica en la ciudad de San Luis, Argentina. *Rev. Int. Cont. Amb.* **25(2)**: 111-120.
- Lobban, C. S., & Harrison, P. J. (1995). Seaweed ecology and physiology. *Ocean. Lit. Rev.* **9(42)**: 774.
- Lobel, P.B. and Wright, D.A. (1982). Gonadal and nongonadal zinc concentrations in mussels. *Mar. Pollut. Bull.* **13**: 329–323.
- Lozada-Zarate, E. J., Monks, S., Pulido-Flores, G., Gordillo-Martínez, A. J., & Prieto-García, F. (2007). Determinación de metales pesados en *Cyprinus carpio*

en la Laguna de Metztlán, Hidalgo, México. Pulido-Flores, G. y López-Escamilla, A. L (eds.), 91-94.

- Lubet, P. (1959). Recherches effectuées sur les mytilidés et les pectinidés. *Rev. Tray. Inst. Pêches marit.* **23**: 397-548.
- Luoma, S. N., Cain, D. J., Ho, K., & Hutchinson, A. (1983). Variable tolerance to copper in two species from San Francisco Bay. *Mar. Environ. Res.* **10(4)**: 209-222.
- Luoma, S. (1990). Processes affecting metal concentrations in estuarine and coastal sediments. In: Heavy Metals in the Marine Environment. Eds. R. Furnes & P. Rainbow. *CRC Press. Inc New York.* 225pp.
- Luoma, S. N. (1994). Prediction of metal toxicity in nature from bioassays: limitations and research needs. In: Tessier, A. and Turner Metal, D.R. (eds.), *Speciation and Bioavailability in Aquatic System*, John Wiley & Sons, Chichester, England, pp. 609-659.
- Marshall, J. S. (1978). Population dynamics of *Daphnia galeata mendotae* as modified by chronic cadmium stress. *J. Fish. Board Can.* **35(4)**: 461-469.
- Marigomez, J. A., & Ireland, M. P. (1990). A laboratory study of cadmium exposure in *Littorina littorea* in relation to environmental cadmium and exposure time. *Sci. Total. Environ.* **90**: 75-87.
- Marín Guirao, L. (2007). Aproximación ecotoxicológica a la contaminación por metales pesados en la laguna costera del Mar Menor. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia.
- Márquez, A., Senior, W., Fermín, I., Martínez, G., Castañeda, J., & González, Á. (2008). Cuantificación de las concentraciones de metales pesados en tejidos de peces y crustáceos de la laguna de Unare, estado Anzoátegui, Venezuela. *Rev. cient.* **18(1)**:73-86.
- Mason, A.Z. & D. Jenkins (1995). Metal detoxification in aquatic organisms. In: A. Tessier & D.R. Turner (eds.). *Metal speciation and bioavailability in aquatic systems.* Wiley, Chichester, pp. 479-607.
- Miles, A.T., G.M. Hawksworth, J.H. Beattie & V. Rodilla (2000). Induction, regulation, degradation, and biological significance of mammalian metallothioneins. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **35**: 35-70.

- Miramand, P., & Bentley, D. (1992). Heavy metal concentrations in two biological indicators (*Patella vulgata* and *Fucus serratus*) collected near the French nuclear fuel reprocessing plant of La Hague. *Sci. Total. Environ.* **111(2-3)**: 135-149.
- Moreno, S. R., F. Díaz-Barriga & S. Devars (1999). Mecanismos de toxicidad y de tolerancia a los metales pesados, p. 12 -20. En C. Cervantes & S.R. Moreno (eds.). Contaminación ambiental por metales pesados. AGT, México, D.F.
- Mountouris, A., Voutsas, E., & Tassios, D. (2002). Bioconcentration of heavy metals in aquatic environments: the importance of bioavailability. *Mar. Poll. Bull.* **44(10)**: 1136-1141.
- Muller, F. L. L. (1998). Colloid/solution partitioning of metal-selective organic ligands, and its relevance to Cu, Pb and Cd cycling in the Firth of Clyde. *Estuar. Coast. Shelf S.* **46(3)**: 419-437.
- Navarro, A., Collado, D., Font, X. (1998). Movilidad de los metales pesados en el acuífiro deltaico del río Almanzora (Almería). *Tec. Cienc. Agua.* **172**: 33-45.
- Navrot, J., Amiel, A. J., & Kronfeld, J. (1974). *Patella vulgata*: a biological monitor of coastal metal pollution: a preliminary study. *Environ. Poll.* **7(4)**: 303-308.
- Norberg, G. F. (2009). Historical perspective on cadmium toxicology. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **238(3)**: 192-200.
- OCDE [Organización para la Cooperación y Desarrollo Económicos & Comisión Económica para América Latina] (2005). Environmental Performance Review, Chile 2005. [http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-environmental-performance-reviews-chile-2005\\_9789264009684-en](http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-environmental-performance-reviews-chile-2005_9789264009684-en)
- Olivares, J. & C. Ruiz (1991). Metales en traza en sedimentos de la IV Región, Coquimbo, Chile. En: Memorias del Primer Seminario Internacional sobre Investigación y Vigilancia de la Contaminación Marina en el Pacífico Sudeste.
- Olsson, P. E., & Hogstrand, C. (1987). Subcellular distribution and binding of cadmium to metallothionein in tissues of rainbow trout after exposure to <sup>109</sup>Cd in water. *Environ. Toxicol. Chem.* **6(11)**: 867-874.
- Orren, M.J., Eagle, G., Henning, H.F.K.-O. and Green, A. (1980). Variations in trace metals contents of the mussel *Choromytilus meridionalis* (Kr) with season and sex. *Mar. Pollut. Bull.* **11**: 253–257.

- Österberg, R. (1974). Metal ion-protein interactions in solutions. In *Metal Ions in Biological Systems*, Sigel, H. (ed.), pp. 45-88. Marcel Dekker Inc.
- Owens, R., P. Balls & B. Price (1997). Physicochemical processes and their effects on the composition of suspended particulate material in estuaries: implications for monitoring. *Mar. Pollut. Bull.* **34 (1)**: 51-60.
- Pesch, G.G. and N.E.Stewart (1980). Cadmium Toxicity to Three Species of Estuarine Invertebrates. *Mar. Environ. Res.* **3(2)**:145-156.
- Phillips, D.J.H. (1976). The common mussel *Mytilus edulis* as an indicator of pollution by zinc, cadmium, lead and copper. I. Effect of environmental variables on uptake of metals. *Mar. Biol.* **38**: 59–69.
- Phillips, D. J. (1977). The use of biological indicator organisms to monitor trace metal pollution in marine and estuarine environments—a review. *Environ. Poll.* **13(4)**: 281-317.
- Phillips, D.J.H. and Segar, D.A. (1986). Use of bioindicators in monitoring conservative contaminants: Programme design imperatives. *Mar. Pollut. Bull.* **17(1)**: 10–17.
- Polo, C. (2000). Estadística multivariable aplicada. EPOP, Terrassa, p-143.
- Preston A. (1966). Concentration of <sup>65</sup>Zn in the flesh of oysters related to the discharge of cooling power effluent from the C.E.G.B. Nuclear Power Station at Bradwell-on-Sea, Essex. In, *Radioecological Concentration Processes. Proceedings of the International Symposium, Stockholm 1966* (ed. B. Aberg and F. P. Hungate). pp. 995-1004. Oxford: Pergamon Press.
- Preston, A., Jefferies, D. F., Dutton, J. W. R., Harvey, B. R. & Steele, A. K. (1972). British Isles coastal waters: The concentrations of selected heavy metals in sea water, suspended matter and biological indicators. A Pilot Survey. *Environ. Pollut.* **3**: 69-82.
- Rainbow, P. S. (1997). Trace metal accumulation in marine invertebrates: Marine Biology or Marine Chemistry. *J. Mar. Biol. Ass. UK.* **77**: 195–210.
- Ramirez, M., Massolo, S., Frache, R., & Correa, J. A. (2005). Metal speciation and environmental impact on sandy beaches due to El Salvador copper mine, Chile. *Mar. Poll. Bull.* **50(1)**: 62-72.

- Repetto, M. (1995). Metales Pesados. *Toxicol. Avanz.* Editorial Díaz de Santos. Madrid España.
- Roesijadi, G. (1986). Mercury-binding proteins from the marine mussel, *Mytilus edulis*. *Environ. Health Persp.* **65**:45-8.
- Rosas, H. (1992). Estudio de la contaminación por metales pesados en la cuenca de Llobregat. HERRRERA L., J. HERNÁNDEZ" Anteproyecto de planta industrial de eliminación de sulfatos y metales pesados desde aguas de relave", informe final, CODELCO Chile, Div. El Teniente, 3-45.
- Ross, K., Cooper, N., Bidwell, J.R., Elder, J. (2002). Genetic diversity and metal tolerance of two marine species: a comparison between populations from contaminated and reference sites. *Mar. Poll. Bull.* **44**: 671-679.
- Ruiz, J. M. & J. I. Saiz-Salinas (2000). Extreme variation in the concentration of trace metals in sediments and bivalves from the Bilbao estuary (Spain) caused by the 1989-90 drought. *Mar. Environ. Res.* **49**: 307-317.
- Rundel, P. W., Dillon, M. O., & Palma, N. (1996). Flora and vegetation of Pan de Azucar national park in the Atacama desert of northern Chile. *Gayana Bot*, **53(2)**: 295-315.
- Sadiq, M. (1992). Heavy metals. In: Toxic metal chemistry in marine environments. Marcel Dekker, Inc., New York, 390 pp.
- Saíinz, A., Grande J.A., de la Torre, M.L., Sanchez-Rodas, D. (2002). Characterization of sequential leachate discharges of mining waste rock dumps in the Tinto and Odiel rivers. *J. Environ. Manage.* **64**: 345-353.
- Salamanca, M., L. Chuecas & F. Carrasco (1986). Heavy metals in surface sediments from three embayments of Central South Chile. *Mar. Poll. Bull.* **17**: 567-569.
- Salamanca, M. & A. Camaño (1994). Historia de la contaminación por metales en traza en dos áreas costeras del norte y centro-sur de Chile. *Gayana Ocean.* **2**: 31-48.
- Salamanca, M. (1996). Geocronología de sedimentos marinos de la zona de fiordos de la XI Región. *Resultados Crucero CIMAR-FIORDO 1*. CONA. 64-68.

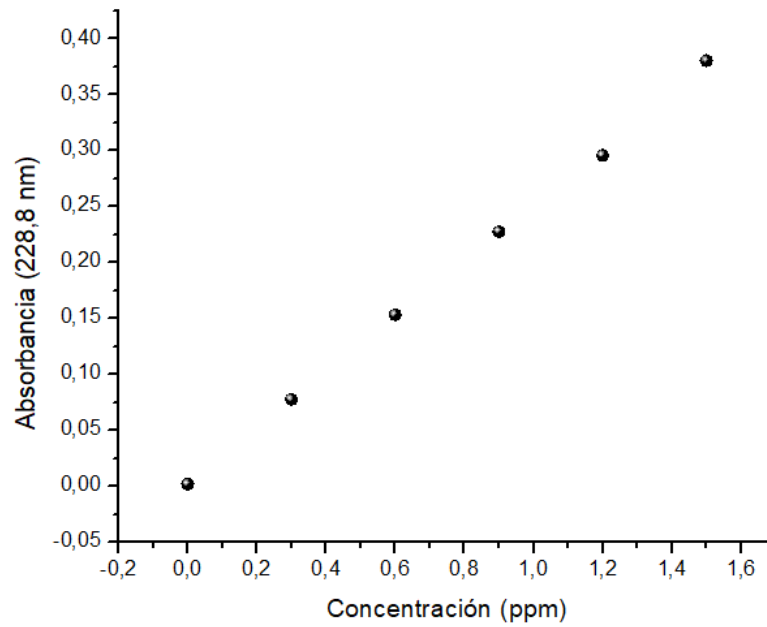
- Salamanca, M, A. Camaño, B. Jara & T. Rodríguez (2000). Cu, Pb and Zn distribution in nearshore water in San Jorge Bay, Northern Chile. *Gayana* **64**: 195-204.
- Salamanca, M. A., Jara, B., & Rodríguez, T. (2004). Niveles de Cu, Pb y Zn en agua y *Perumytilus purpuratus* en bahía San Jorge, norte de Chile. *Gayana* (Concepción), **68(1)**: 53-62.
- Salvador Figueras, M (2001):"Análisis de conglomerados o cluster", [en línea] 5campus.org, Estadística <<http://www.5campus.org/leccion/cluster>> (acceso 9 de julio,2017)
- Samboni Ruiz, N. E., Carvajal Escobar, Y., & Escobar, J. C. (2007). Revisión de parámetros fisicoquímicos como indicadores de calidad y contaminación del agua. *Ing. Invest.* **27(3)**: 172-181
- Schulz-Baldes, M. (1974). Lead uptake from sea water and food, and lead loss in the common mussel, *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.* **25**: 177-93.
- Shcumatcher, M., Domingo, J.; Llobet, J., Corbella, J. (1995). Variations of heavy metals in water, sediments and biota from the Delta of the Ebro River, Spain. *J. Environ. Sci. and Health.* **30 (6)**:1361-1372.
- Shore, R., Carney, G. & Stygall, T. (1975). Cadmium levels and carbohydrate metabolism in limpets. *Mar. Pollut. Bull.* **6**: 187-9.
- Sigel, A., Sigel, H., & Sigel, R. K. (2009). Metallothioneins and related chelators (Vol. 5). Royal Society of Chemistry. pp. 544
- Seatemperature.info. (2017). Sea water temperature. Water surface temperatures in the coast of oceans and seas. [online] Disponible en: <http://seatemperature.info> (acceso 8 de Agosto, 2017).
- Stauber, J. L., Andrade, S., Ramirez, M., Adams, M. C. J. A., & Correa, J. A. (2005). Copper bioavailability in a coastal environment of Northern Chile: comparison of bioassay and analytical speciation approaches. *Mar. Poll. Bull.* **50(11)**: 1363-1372.
- Taylor, D. (1983). The significance of the accumulation of cadmium by aquatic organisms. *Ecotox. Environ. Safe.* **7(1)**: 33-42.
- Tiwary, R.K. (2001). Environmental impact of coal mining on water regime and its management. *Water Air Soil Poll.* **132**: 185-199.

- Tournié, T., & El Mednaoui, H. (1986). Metal-complexing agents released into the marine environment by the deposit feeder *Hydrobia ulvae* (Gastropoda: Prosobranchia): characterization and regulation processes. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 251-259.
- U.S. EPA [United States Environmental Protection Agency] (1985). Ambient Aquatic Life Criteria for Copper. EPA 440/5-84-031. U.S. EPA, Washington, DC.
- Valdés, J., Guiñez, M., Castillo, A., & Vega, S. E. (2014). Contenido de Cu, Pb y Zn en sedimentos y organismos bentónicos de la bahía San Jorge (norte de Chile): Acumulación y biotransferencia en sistemas costeros submareales. *Cienc. Mar.* **40(1)**: 45-58.
- Vermeer, K. & JC. Castilla (1991). High cadmium residues observed during a pilot study in shorebirds and their prey downstream from the El Salvador copper mine, Chile. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **46**: 242-248.
- Viarengo, A., Pertica, M., Mancinelli, G., Zanicchi, G., Bouquegneau, J. M. & Orunesu, M. (1984). Biochemical characterisation of copper thioneins isolated from tissues of mussels exposed to the metal. *Mol. Physiol.* **5**: 41-52.
- Viarengo, A., Pertica, M., Canesi, L., Mazzucotelli, A., Orunesu, M. & Bouquegneau, J. M. (1989). Purification and biochemical characterisation of a lysosomal copperrich thionein-like protein involved in metal detoxification in the digestive gland of mussels. *Comp. Biochem. Physiol.* **93C**: 389-95.
- Winner, R. W. (1988). Evaluation of the relative sensitivities of 7-D *Daphnia magna* and *Ceriodaphnia dubia* toxicity tests for cadmium and sodium pentachlorophenate. *Environ. Toxicol. Chem.* **7(2)**: 153-159.
- Zúñiga M. (1998). Ecotoxicología de metales en el ambiente acuático: Una revisión actualizada. En: Arcos D (ed). Minería del cobre, ecología y ambiente costero, pp. 349-376. Editora Aníbal Pinto, Santiago.

## VI. ANEXO I

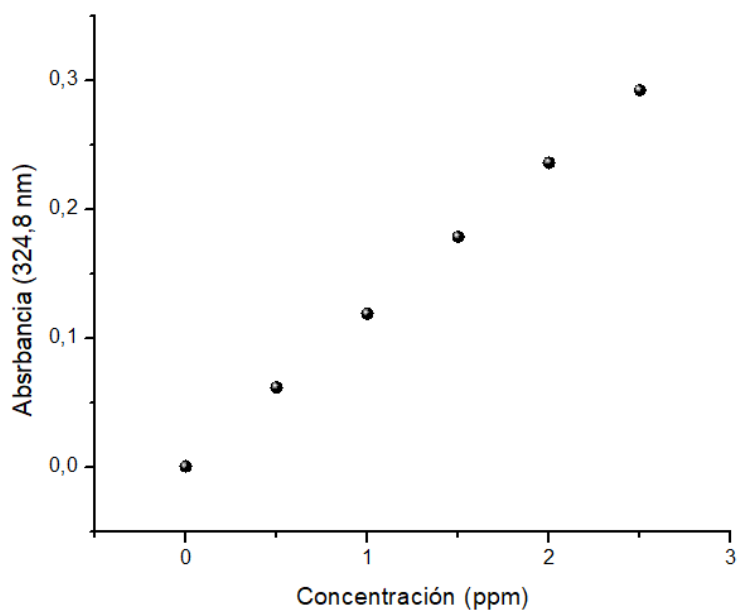
**Tabla 1.** Especificación de las condiciones del EAA para Cd, Cu y Zn.

	<b>Cd</b>	<b>Cu</b>	<b>Zn</b>
<b>Corriente</b>	8 mA/0 mA ;8 mA/0 mA	8 mA/0 mA ;10 mA/300 mA	6 mA/0 mA ;6 mA/500 mA
<b>Longitud de onda</b>	228,8 nm	213,9 nm	324,8 nm
<b>Ancho de la rendija</b>	0,5 nm	0,5 nm	0,5 nm
<b>Modo de iluminación</b>	BGC-D2; BGC-SR	BGC-D2; BGC-SR	BGC-D2; BGC-SR
<b>Altura del quemador</b>	7 mm	7 mm	7 mm
<b>Ángulo del quemador</b>	0 deg	0 deg	0 deg
<b>Flujo del gas combustible</b>	1,8 l/min	2.0 l/min	1.8 l/min
<b>Tipo de oxidante</b>	aire	aire	aire

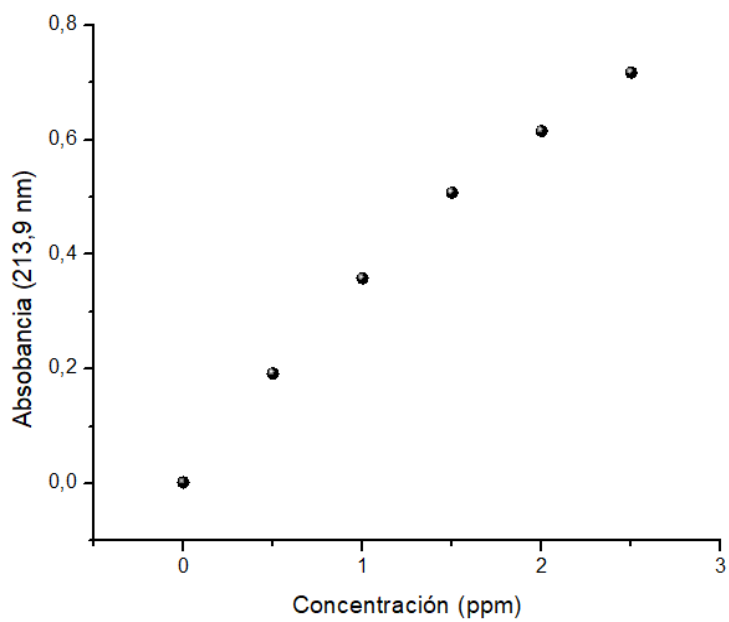


**Figura 13.** Curva de Calibración de Cd.





**Figura 14.** Curva de Calibración de Cu.



**Figura 15.** Curva de calibración de Zn.

**Tabla 2.** Concentración de Cu, Cd y Zn, masa y longitud de las lapas analizadas en el borde costero de la comuna de Chañaral.

<b>Muestra</b>	<b>Cd (µg/g)</b>	<b>Cu (µg/g)</b>	<b>Zn (µg/g)</b>	<b>Masa (g)</b>	<b>Longitud (cm)</b>
<b>L2 E1</b>	2119,98	9,73	94,10	1,8374	5,5
<b>L6 E1</b>	1791,19	5,00	84,36	1,9122	5,0
<b>L2 E2</b>	377,06	8,33	42,48	16,1208	9,0
<b>L3 E2</b>	415,08	20,01	60,45	14,1516	9,0
<b>L5 E2</b>	820,20	6,70	303,82	2,7701	6,0
<b>L6 E2</b>	554,20	8,94	283,80	2,4837	4,5
<b>L8 E2</b>	866,60	2,84	277,70	2,1369	4,5
<b>L9 E2</b>	719,00	6,06	277,70	1,0624	5,3
<b>L2 E3</b>	176,42	21,28	27,78	9,1891	8,0
<b>L6 E3</b>	289,25	18,76	23,12	9,5497	8,0
<b>L11 E3</b>	642,04	9,49	27,92	2,5844	6,4
<b>L12 E3</b>	671,48	11,82	25,12	2,6544	6,0
<b>L14 E3</b>	449,27	3,30	32,17	2,5396	6,0
<b>L15 E3</b>	105,41	11,23	24,41	2,0932	5,2
<b>Promedio</b>	<b>714,09</b>	<b>10,25</b>	<b>113,21</b>	<b>5,0775</b>	<b>6,31</b>
<b>Mínimo</b>	<b>105,41</b>	<b>2,84</b>	<b>23,12</b>	<b>1,0624</b>	<b>4,50</b>
<b>Máximo</b>	<b>2119,98</b>	<b>21,28</b>	<b>303,82</b>	<b>16,1208</b>	<b>9,00</b>