



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.
ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

INFORME FINAL CONSOLIDADO

“ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS”

Elaborado por el Centro Nacional del Medio Ambiente
(CENMA) para el Ministerio del Medio Ambiente (MMA)

Santiago de Chile

Diciembre de 2011



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.
ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

Informe preparado por:

Dra. Isel Cortes Nodarse

Jefe de Laboratorio de Química Ambiental-CENMA

Profesor Adjunto. Facultad de Ciencias - Universidad de Chile

MSc (c) Ana Silva Solís de Ovando

Biólogo Marino – Profesional de Apoyo proyectos - CENMA

Este Informe debe ser citado como:

I., Cortés y Silva, A. “Armonización de criterios de muestreo y análisis tendientes a la modelación de la calidad ambiental de estuarios y bahías.” INFORME CONSOLIDADO. DICIEMBRE 2011.

Revisado y aprobado por:

Dr. Ítalo Serey Estay

Director Ejecutivo

Fundación Centro Nacional del Medio Ambiente.



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.
ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

Participantes del proyecto y sus funciones:

Dra. Isel Cortés Nodarse	Coordinación general y dirección del proyecto
Qco. Jorge Muñoz	Supervisor Laboratorio de Química Ambiental
Mag. Daniel E. Rebolledo Fuentes	Elaboración de informes. Análisis de metales totales y metales de SPLP en muestras, mediante ICP.
Qco. Carolina Parada	Elaboración de informes. Análisis de materia orgánica por gravimetría en sedimentos.
MSc (c) Ana G. Silva Solís de Ovando	Elaboración de Informes Técnicos y Finales, recopilación bibliográfica, elaboración de cartografía.

Más información

Centro Nacional del Medio Ambiente

Av. Larraín 9975, La Reina, Santiago de Chile

788-0096 LA REINA

Teléfono: (56-2) 927-5570 Fax: (56-2) 275-1688

<http://www.cenma.cl>



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.
ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

ÍNDICE

CAPÍTULO I: RESUMEN EJECUTIVO	8
CAPÍTULO II: INTRODUCCIÓN	9
2.1. Presentación general	9
2.2. Antecedentes generales del estudio	9
2.2.1. Monitoreos y análisis en el medio marino	9
2.2.2. El medio ambiente marino	10
2.2.3. Contaminantes del medio marino	14
2.2.4. Efectos de los contaminantes marinos en la biota y ecosistemas marinos ...	17
2.2.5. Química de los cuerpos de agua marinos.....	20
CAPÍTULO III: OBJETIVOS	22
3.1. Objetivos	22
3.1.1. Objetivo General	22
3.1.2. Objetivos Específicos.....	22
CAPÍTULO IV: PRODUCTOS ESPERADOS	23
CAPÍTULO VI: INFORME N° 1, “PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO”.....	27
CAPÍTULO VII: PRODUCTO: “INFORME N° 2, EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO; CASO DE ESTUDIO: FIORDO AISÉN” ..	28
CAPÍTULO VIII: PRODUCTO: “FICHAS ESTANDARIZADAS PARA LA PRESENTACIÓN DE LA INFORMACIÓN OBTENIDA DE MUESTREOS Y ANÁLISIS EN CUERPOS DE AGUA”.....	29
CAPÍTULO IX: PRODUCTO: “LISTA DE CHEQUEO ESTANDARIZADA PARA EVALUACIÓN DE LA CONSISTENCIA DE LA INFORMACIÓN CONTENIDA EN LAS FICHAS ESTANDARIZADAS”	29



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.
ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

CAPITULO X: PRODUCTO: “MANUAL DE USO DE FICHAS ESTANDARIZADAS Y LISTA DE CHEQUEO”	30
CAPÍTULO XI: CONCLUSIONES	31
CAPÍTULO XII: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	32



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.
ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Servicios ambientales producidos por los sistemas acuáticos costeros, ordenados según valor estimado.	13
Tabla 2. Contaminación por descargas municipales a cuencas vinculadas con áreas costeras.	17
Tabla 3. Parámetros medidos en las distintas matrices.	27



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.
ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. Informe Técnico N°1, “ Protocolos Armonizados de Muestreo y Análisis de contaminantes relevantes en el medio marino”.	36
ANEXO 2. Informe Técnico N°2, “Evaluación de Protocolos Armonizados de Muestreo y Análisis de contaminantes Relevantes en el Medio Marino. Caso de estudio: Fiordo Aisén.	37
ANEXO 3. Fichas estandarizadas de Muestreo y Análisis en ambientes marinos.	38
ANEXO 4. Lista de Chequeo estandarizada.	39
ANEXO 5. Manual de Uso de Fichas estandarizadas de muestreo y análisis y lista de chequeo	40



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.
ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

CAPÍTULO I: RESUMEN EJECUTIVO

El presente informe provee un resumen de las actividades y productos obtenidos del proyecto “Armonización de criterios de muestreo y análisis tendientes a la modelación de la calidad ambiental de estuarios y bahías”.

Este informe entrega antecedentes metodológicos de la forma en que fueron abordados los diversos objetivos estipulados en los términos de referencia. Entrega de forma clara un marco teórico en el cual se inserta el proyecto y su problemática, estableciendo las necesidades futuras de líneas de investigación.

Se hace una breve descripción de las bases bibliográficas utilizadas para la elaboración de los protocolos de muestreo y análisis propuestos para ambientes marinos de estuarios y bahías. Tales protocolos son evaluados en la aplicación de estudio de caso, para el cual se seleccionó el Fiordo Aisén. Para este caso se evaluó el protocolo de muestreo de sedimentos marinos y para los protocolos de análisis de metales totales y materia orgánica.

Como elemento final, se entregan una serie de herramientas: fichas estandarizadas para datos obtenidos del muestreo y de análisis, además de una lista de chequeo, para la validación y corroboración de información obtenida.



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.
ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

CAPÍTULO II: INTRODUCCIÓN

2.1. Presentación general

Este documento constituye el INFORME FINAL CONSOLIDADO del Proyecto “Protocolos Armonizados de Muestreo y Análisis de contaminantes relevantes en el medio marino”.

El proyecto consideró por solicitud del Ministerio del Medio Ambiente abordar la elaboración de protocolos (de muestreo y análisis) que permitan, en el corto plazo, armonizar la obtención de datos válidos para alimentar un modelo de calidad actual y de capacidad de carga de contaminante, en estuarios y bahías. De este modo, será posible durante la recopilación de información necesaria para el modelo compatibilizar y estandarizar la data que a futuro se genere.

2.2. Antecedentes generales del estudio

2.2.1. Monitoreos y análisis en el medio marino

La realización de monitoreos y análisis de muestras desde cuerpos de agua y matrices afines (sedimento y biota), ha sido una labor sistemáticamente desarrollada en Chile por múltiples instituciones y propósitos. Se incluyen en esta categoría tanto estudios básicos de calidad y conservación de cuerpos de agua desarrollados por consultoras, centros de investigación y universidades, hasta monitoreos sistemáticos realizados como parte de seguimiento de normas e emisión o como parte de resoluciones de calificación ambiental a proyectos específicos. Conjuntamente el gobierno mantiene redes de monitoreo de calidad para aguas continentales y marinas, las primeras operadas por la Dirección General



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.

ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

de Aguas (DGA), mientras que las segundas son operadas dentro del Programa de Observación del Ambiente Litoral coordinado por la Dirección de Territorio Marítimo y Marina Mercante (DIRECTEMAR).

Sin embargo, los resultados de tantas mediciones resultan difíciles de armonizar con propósitos de generalizar y/o modelar la calidad de las aguas naturales como base para estimar su capacidad de carga para asimilar contaminantes. Lo anterior se debe principalmente a la trazabilidad en los procedimientos de muestreo, y no ha existido consenso acerca de los parámetros relevantes a monitorear y acerca de los requisitos metodológicos específicos para realizar los análisis de las muestras.

Las zonas estuarinas y las bahías resultan, en este contexto, los ecosistemas más críticos, tanto por su complejidad ecológica, su vulnerabilidad como por la visión localizada de muchos de los datos existentes.

2.2.2. El medio ambiente marino

Los océanos y mares son los ecosistemas acuáticos más importantes a escala planetaria, principalmente en función de su formidable tamaño e influencia en el patrón climático global, y de su papel en la economía humana en relación con las actividades pesqueras de gran escala y otras. Paradójicamente son los ecosistemas menos conocidos, especialmente en lo que toca a la ecología del océano medio y del océano profundo.

La heterogeneidad del ambiente marino se incrementa debido a las corrientes marinas, cuyo flujo puede determinar estratificación y entrelazamiento de volúmenes de líquido con distintas temperaturas.



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.
ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

Estos tipos de ecosistemas acuáticos representan situaciones especiales, debido a que el contacto entre el agua salina y la dulce implica una dinámica muy activa de intercambios físicos, químicos y biológicos, principalmente entre el mar y las desembocaduras de ríos (Smith, 1980). Todo ello crea condiciones ambientales variables en cuanto a la salinidad del agua y su oxigenación, así como a los nutrientes en suspensión y a las condiciones de los suelos inundados. Algunas de estas variaciones están sujetas a periodicidad estacional y otras pueden calificarse como elementos de un régimen de perturbaciones a menores plazos (incluso diarios). Las formas de vida acuáticas en ecosistemas estuarinos están distribuidas en general de acuerdo con los gradientes de salinidad y así, por ejemplo, la riqueza de especies tiende a decrecer de la boca de un estuario hacia aguas arriba del río que desemboca allí (Wells, 1961).

Los ecosistemas marino – costeros son ambientes dinámicos con alta variabilidad en el tipo de sedimentos, hábitat biológico y procesos de transporte y deposición que se encuentran frecuentemente impactados por muchas actividades antropogénicas dentro de las cuales se encuentran los asentamientos humanos, industrias y descargas de aguas servidas (Márquez *et al.*, 2007).

En las áreas a lo largo de la costa se experimenta un crecimiento rápido de población. Cerca de la mitad de la población mundial está localizada a menos de 60 kilómetros de la costa y podría llegar al 70% en el año 2020 (Naciones Unidas, 1992). En las zonas cercanas a las costas hay un activo crecimiento industrial. Las franjas costeras, donde desembocan ríos o aflora agua subterránea son, en general, un mosaico complejo e interactivo de ecosistemas compuestos por humedales, lagunas costeras, marismas, hábitats de aguas dulces, estuarios y zonas ribereñas interconectados por canales y que además son receptoras de



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.
ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

material, agua dulce, sólidos disueltos, partículas y recursos vivos provenientes de los continentes.

Los servicios ecosistémicos de las áreas costeras son muy amplios. Son una efectiva defensa natural que regula muchas alteraciones, como el efecto de inundaciones, marejadas, tormentas y crecidas. También proporcionan alimento y refugio para un gran número de organismos y contribuyen a través de sus procesos naturales, a reducir contaminantes . (Tabla 1).

Los ecosistemas costeros y marinos de Chile están dominados por el Sistema de la Corriente de Humboldt (SCH), uno de los ecosistemas más productivos sobre la tierra. La oceanografía general del SCH está caracterizada por un flujo hacia el norte predominante de aguas superficiales de origen sub-antártico, y por una fuerte corriente ascendente de aguas frías superficiales ricas en nutrientes de origen ecuatorial. A lo largo de la costa del norte y centro de Chile, se localiza la corriente ascendente y su aparición cambia desde ser sumamente continua (no propias de la estación) en el norte de Chile hasta llegar a un patrón más estacional en el centro sur de Chile.

Los sistemas de corrientes ascendentes generalmente se caracterizan por una elevada producción y cadenas/redes alimentarias relativamente breves que permiten un traspaso de energía masivo hacia los niveles tróficos más elevados. Lo que permite sostener la alta productividad en recursos pesqueros de interés comercial.

Tabla 1. Servicios ambientales producidos por los sistemas acuáticos costeros, ordenados según valor estimado.

Orden	Servicio ecosistémico	Función ecosistémica	Ejemplos
1	Ciclo de nutriente	Almacenamiento y procesamiento de nutrientes	Fijación de N, ciclo de nutrientes
2	Tratamiento de desechos	Remoción y degradación de exceso de nutrientes y contaminantes	Control de la contaminación
3	Regulación de las alteraciones	Amortiguación del impacto producido por alteraciones climáticas	Protección de tormentas, recuperación de sequías
4	Recreación	Ninguno	Pesca deportiva, baño
5	Alimentación	Proporciona recursos extraíbles para la alimentación	Acuicultura costera
6	Refugio	Hábitat, biodiversidad	Especies migratorias, crecimiento y reproducción
7	Cultural	Ninguno	Estético artístico, espiritual, investigación
8	Control Biológico	Dinámica trófica, biodiversidad	Predadores claves, control de las plagas
9	Materiales de desecho	Porción de PP extraíbles como material de desecho	Petróleo, madera, combustible
10	Control de gases	Composición química de la atmósfera	CO ₂ , CO ₃ , SO _x

Fuente: Adaptado de Constanza *et al.*, 1997



Universidad de Chile

2.2.3. Contaminantes del medio marino

Los ecosistemas acuáticos, a semejanza de los terrestres, tienen propiedades de *resistencia* al cambio y un cierto grado de *resiliencia* que tiende a volverlos al estado original luego de experimentar cambios moderados. Pero una vez alterados más allá del límite que puede ser manejado por esas dos propiedades, los entornos acuáticos no necesariamente regresarán a su estado inicial, especialmente porque la estabilidad temporal de los ecosistemas acuáticos puede depender de un balance específico entre muchos factores.

Los ecosistemas acuáticos, aunque pueden mostrar una cierta tendencia de estabilidad aparente dentro de plazos medios a escala humana, son entidades cambiantes cuya trayectoria ecológica resulta determinada por los efectos de perturbaciones que, de manera periódica o circunstancial, se presentan en ellos. Los ecosistemas acuáticos, suelen ser mucho más dinámicos y susceptibles de modificación que varios tipos de ecosistemas terrestres, y en muchos casos, los cambios pueden llegar a ser drásticos luego de períodos relativamente largos de aparente resistencia a las alteraciones.

Cerca del 90% de la contaminación producida es transportada por los ríos al mar. En las cuencas, la intensificación del uso agrícola del suelo, la ampliación de las fronteras agrícola y urbana, y la consiguiente deforestación producen importantes cargas de nutrientes y sedimentos en las aguas costeras, que cuando exceden a la capacidad de carga de los ecosistemas se traducen en problemas ambientales. La contaminación de las aguas costeras, la erosión costera, la pérdida de hábitat y de recursos son, entre otros, algunos de los principales problemas que se crean por contaminación de origen terrestre. Por otra parte la existencia de actividades



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.
ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

industriales localizadas en la zona de costa (papeleras, acuicultura, termoeléctricas, etc.), y que tienden a descargar en el mar, son la principal fuente de contaminación directa en estas zonas.

En los ríos que desembocan en el mar se origina cerca del 80% de los contaminantes que afectan las franjas costeras. Los ríos tienen la particularidad de concentrar los contaminantes que captan en las cuencas algunos puntos clave en la costa marina, donde precisamente existen ecosistemas altamente sensibles para la reproducción de especies tanto de agua dulce como salada, como son los estuarios (Kraemer *et. al.*, 2001). Básicamente se produce alteración de las funciones ecológicas, reducción de la diversidad biológica, daño a los hábitats acuáticos y contaminación de los cauces bajos y en los ecosistemas marinos y efectos en la salud humana

En condiciones “normales”, es decir, sin contaminación ni interrupciones de flujo por construcción de represas, los ríos son “responsables” del ingreso a las áreas costeras de cargas importantes de nutrientes y de sedimentos ricos en materia orgánica e inclusive de arena que mantiene las playas aledañas que permiten la presencia de pesquerías costeras y condicionan el desarrollo de ecosistemas de alta productividad biológica como son: manglares, marismas y lagunas costeras y otros humedales costeros. La alteración del flujo de estas sustancias y sedimentos produce efectos negativos importantes en las propiedades y funciones de los ecosistemas costeros, en la biodiversidad, en la oceanografía costera, en la dinámica de las playas así como también en la abundancia y distribución de los recursos marinos vivos y de agua dulce.



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.

ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

Los ingresos excesivos de sedimentos tienen efectos tan indeseables como los producidos por su disminución marcada. El transporte de cargas crónicas y elevadas de sedimentos al mar reduce el volumen de los estuarios y lagunas costeras, afectando no sólo la navegación sino que incrementan la vulnerabilidad de las costas frente a las tormentas y las mareas. Su reducción por otro lado afecta la estabilidad de las playas. También afecta el tamaño y distribución del hábitat de especies acuáticas importantes para el consumo humano, como son las lagunas salobres, manglares y corales, humedales costeros, entre otros. Afecta también la productividad primaria reduciéndola.

Los metales pesados y pesticidas y otros contaminantes que forman uniones químicas con las partículas de sedimento, pasan de la columna de agua a los sedimentos de fondo para ser acumulados y posteriormente liberados, generalmente en formas más tóxicas o viables de ser tomados y con mayor rapidez por los organismos marinos.

La descomposición de la materia orgánica contenida en los sedimentos representa una demanda de oxígeno la cual, cuando es combinada con la estratificación física, lleva a crear fondos anóxicos y a producir mortandad de peces. La remineralización de los nutrientes¹ en el fondo, durante los procesos de descomposición, hace del fondo marino una fuente continua o gradual y adicional de nutrientes, que podría inducir a la eutroficación de las aguas. La fauna bentónica puede ser cubierta con

¹ Las plantas acuáticas requieren de una variedad de elementos para su desarrollo. Los más importantes son el nitrógeno y el fósforo, que al estar presentes en exceso producen el crecimiento abundante de algas y plantas, generando eutroficación que puede llevar a un consumo excesivo del contenido de oxígeno disuelto presente en el cuerpo de agua



Universidad de Chile

las partículas de sedimentos y desaparecer, afectando el reclutamiento de especies.

Tabla 2. Contaminación por descargas municipales a cuencas vinculadas con áreas costeras.

	Vertimientos municipales a cuencas fluviales
	El 82% del total de las aguas residuales municipales generadas llegan al mar a través de veintisiete cuencas hidrográficas, en las que los ríos Elqui, Aconcagua, Maipo, Mapocho, Rapel, Bío-bío y Valdivia tienen un lugar destacado. En especial son afectadas áreas costeras de Valparaíso (esteros Marga-Marga y Reñaca) y Concepción (Talcahuano, San Vicente). En la desembocadura del río Aconcagua, se captan desechos domésticos e industriales de sectores de Quintero y Concón. El río Elqui recibe desechos domésticos de Coquimbo. Los ríos Calle Calle y Valdivia captan desechos de la ciudad de Valdivia.

Fuente: Escobar, 2002

2.2.4. Efectos de los contaminantes marinos en la biota y ecosistemas marinos

El análisis de sedimentos y agua circundante ha sido comúnmente usado en la detección y evaluación de procesos contaminantes.

Los metales son componentes naturales del agua de mar y muchos de ellos como el cobre, hierro, manganeso, níquel, selenio, vanadio y zinc participan en procesos esenciales de los organismos marinos. Son requeridos como micronutrientes en



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.
ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

muchas enzimas y en sistemas de transporte de electrones en sistemas vivientes (Coale, 1991).

Una vez que la capacidad de asimilación es excedida, ya sea por un exceso del ión o por presencia inusual de altos contenidos de metales no esenciales como plata, cadmio, mercurio y plomo, pueden ocurrir numerosos y nocivos efectos en los organismos expuestos. (Buschmann y Fortt, 2005).

La descarga de metales en ambientes marinos, puede causar daños a los organismos, dada la alta toxicidad de muchas de estas descargas. Por otra parte, algunos de estos organismos, como los moluscos, pueden acumular grandes concentraciones de estas sustancias en sus tejidos, y al ser consumidos por otros organismos mayores se produce un traspaso de estos contaminantes a través de la trama trófica, el que deja de ser un efecto aislado y pasa a constituirse en un daño ambiental de mayor gravedad, al afectar al ecosistema marino conformado por las diversas especies de organismos y su entorno o hábitat. Esto a la vez puede constituir un riesgo para la salud humana, por el posible consumo de estos productos.

El análisis de sedimentos y/o agua circundante ha sido comúnmente usado en la detección y evaluación de procesos contaminantes. Durante los últimos años, se ha demostrado que organismos marinos como peces (Beder, 1989; Weis & Weis, 1989; Gray *et al.*, 1992; Otway, 1992) e invertebrados filtradores (Zauke y Petri., 1993; Gerhardt, 1993) son excelentes indicadores de los niveles de concentración de metales y han sido usados para determinar focos de contaminación en ambientes marinos



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.

ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

El efecto de los desechos de la minería del cobre y hierro en la franja costera de algunas localidades del norte de Chile, que aloja gran parte de la biodiversidad marina y la mayoría de los organismos bentónicos de importancia económica, ha sido estudiado a distintos niveles de organización: en la columna de agua y sedimentos (Vásquez *et al.*, 1999; Ahumada, 1998), en especies (Vásquez y Guerra, 1996), poblaciones (Vásquez *et al.*, 1999, 2000) y a nivel de comunidades bentónicas (Vásquez *et al.* 1999).

Aun cuando la mayoría de los estudios se restringen a la evaluación de los niveles de concentración de metales pesados en sedimentos y organismos, existe alguna evidencia de los efectos de estos vertidos en la estructura y organización de poblaciones y comunidades marinas costeras (Buschmann y Fortt, 2005).

El ingreso de aguas servidas como principales residuos provenientes de centros urbanos con descarga mediante emisarios submarinos a zonas costeras, es una de las mayores causas de eutrofización y decrecimiento del contenido de oxígeno en muchas áreas costeras carentes de una adecuada ventilación por medio de las corrientes marinas.

La presencia de ciertas actividades económicas en ambientes marinos tales como la acuicultura, ha producido beneficios económicos para el país, sin embargo en cuerpos de agua que son utilizados para esta actividad han presentado impactos importantes, que dependen principalmente del método de cultivo utilizado. Entre los impactos ecológicos descritos en bibliografía, destacan el enriquecimiento inorgánico solubles en el agua (nitrógeno y fósforo); enriquecimiento orgánico producto del exceso de alimento y fecas que van sedimentando en los fondos de bahías, fiordos y estuarios; interacción de especies silvestres con especies introducidas o exóticas; la incorporación de compuestos bioactivos (pesticidas,



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.
ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

antibióticos, compuestos antifouling); la descarga de residuos líquidos y sólidos, domésticos y de la producción como restos de redes y plásticos.

2.2.5. Química de los cuerpos de agua marinos

Los parámetros químicos han sido considerados tradicionalmente como los más importantes para definir la calidad ambiental del agua. Esto fundamentalmente por la facilidad para estandarizar su medición, lo que permite la comparación entre situaciones y cuerpos de agua distantes en el tiempo y el espacio. (Cortés, 2010).

Para evaluar las tendencias espaciales o temporales de las concentraciones de contaminantes, definir criterios (y en algunos casos leyes) relativos a la calidad de las aguas costeras e interpretar los estudios de los efectos biológicos, es evidente que se necesitan datos que puedan compararse entre sí y que sean lo más precisos posible.

El análisis de las variables químicas de calidad ambiental permite conocer la fertilidad de los ecosistemas acuáticos y el deterioro de los cuerpos de agua de circulación restringida como lagos, embalses, lagunas costeras, estuarios, bahías, fiordos, etc. Y la línea de costa producto de la sobre - fertilización de estos ambientes acuáticos debido al vertimiento de residuos de variado origen (domésticos, industriales y agropecuarios), alterando el delicado equilibrio de estos ecosistemas.

El análisis de micronutrientes y contaminantes marinos se generalizó con la aparición y perfeccionamiento de las técnicas de espectrofotometría visible, UV



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.
ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

(espectrofotometría ultravioleta – visible), IR (espectrofotometría infrarroja), EEA (espectrofotometría de emisión atómica), etc.

La calidad en los procesos analíticos adquiere cada día mayor importancia. Por calidad se entiende el conjunto de características de la información generada. Cuando se requiere estudiar los procesos biogeoquímicos y su evolución en el medio marino y los niveles de contaminación en el mismo se requiere el empleo de metodología analíticas que brinden resultados exactos, precisos y rápidos.

Los subproductos de la actividad humana que pueden tener efecto directo sobre los ciclos químicos del medio oceánico, corresponden a la acumulación de residuos sólidos, los radiactivos, los subproductos de síntesis orgánica a gran escala, los insecticidas, hidrocarburos, etc.

En el análisis de las condiciones oceánicas es necesario alcanzar una mejor comprensión de los diversos ciclos químicos de los elementos y compuestos del agua del mar, para conservar sus características, debido a que si se agregan nuevos elementos y compuestos, se podrían cambiar los ritmos propios de estos ciclos, así como sus productos finales.



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.
ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

CAPÍTULO III: OBJETIVOS

3.1. Objetivos

3.1.1. Objetivo General

“Apoyar la armonización de criterios de muestreo y análisis tendientes a la modelación del estado de calidad de estuarios y bahías y la estimación de su capacidad para recibir contaminantes seleccionados”.

3.1.2. Objetivos Específicos

- Desarrollar un protocolo armonizado para la obtención de datos válidos que permitan alimentar el modelo Environmental Fluid Dynamics Code (EFDC), con aplicación a estuarios y bahías. Evaluación y diseño de un caso de estudio.
- Elaborar fichas estandarizadas para la presentación de la información obtenida de muestreos y análisis en cuerpos de agua marinos.
- Elaborar listas de chequeo estandarizadas para evaluar la consistencia de la información contenida en las fichas anteriores. Acompañadas de un manual de uso para su aplicación.
- Convocar expertos y obtener consenso sobre los instrumentos descritos
- Capacitar a profesionales de la Superintendencia de Medio Ambiente u otros involucrados en la implementación de los protocolos, fichas y lista de chequeo anteriores.



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.
ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

CAPÍTULO IV: PRODUCTOS ESPERADOS

Los productos esperados de este proyecto son:

- **Elaborar un protocolo para armonizar la obtención de datos válidos para alimentar el modelo EFDC, con aplicación a estuarios y bahías.** En este se describen los pasos específicos para la toma de muestras en ambientes marinos, para agua, sedimento y biota. Se establecen además las metodologías analíticas recopiladas de antecedentes internacionales para el análisis de contaminantes relevantes (metales totales, Voc's y compuestos semivolátiles) para las matrices ya señaladas. Constituye el documento "**Protocolos Armonizados de muestreo y análisis de contaminantes relevantes en el medio marino**", presentado en el **Anexo 1**.
- **Evaluar el protocolo diseñado en un caso de estudio.** El presente producto tiene como finalidad evaluar los protocolos propuestos en el informe N°1 (Protocolos armonizados de muestreo y análisis de contaminantes relevantes en el medio marino), para esto se plantea un estudio de caso "Fiordo Aisén", para la evaluación de protocolo de muestreo y análisis de sedimentos marinos. Constituye el documento "**Informe N°2, caso de estudio: Fiordo Aisén**", presentado en el **Anexo 2**.
- **Elaborar Ficha estandarizada para la presentación de la información obtenida de muestreos y análisis en cuerpos de agua.** La ficha constituye una herramienta para la estandarización y revisión de la información recopilada mediante muestreo y análisis realizados en matrices ambientales. La ficha se



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.
ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

entregó como producto en el “**Informe N° 1**” (punto 10). Se presenta una versión modificada de ambas fichas en este informe en el **Anexo 3**.

- **Elaborar lista de chequeo estandarizada para evaluar la consistencia de la información contenida en la ficha anterior.** La lista de chequeo constituye una herramienta de ayuda para el aseguramiento respecto de la información contenida en las fichas, permite corroborar el formato adecuado de tal información. La lista de chequeo se entregó como producto en el “**Informe N°1**” (punto 9). Se presenta en este informe en el **Anexo 4**.

- **Manual de uso de fichas y lista de chequeo**

El manual de uso constituye una guía rápida para el entendimiento en el uso y aplicación tanto de las fichas como de la lista. Constituye el documento N°3, “**Manual de uso de Fichas y lista de Chequeo estandarizada para muestreo y análisis**”, presentado en el **Anexo 5**.

- **Talleres de trabajo con expertos**

Convocar especialistas del área, para la discusión de criterios para la selección de metodologías y especies biológicas a monitorear.

- **Capacitación de funcionarios**

Realizar capacitación a funcionarios de la Superintendencia del Medio Ambiente en las temáticas señaladas en el presente proyecto.



Universidad de Chile

CAPÍTULO V: ENFOQUE GENERAL DE LA METODOLOGÍA DE TRABAJO

La metodología de trabajo aplicada en el presente proyecto consideró los siguientes aspectos y supuestos:

- Exhaustiva revisión y recopilación de antecedentes tanto nacionales como internacionales para colección de información referentes a procedimiento de muestreo en ambientes marinos (estuarios, bahías), para la obtención de muestras de agua, sedimento y biota (macroinvertebrados y meiobentos).

Para esto se revisaron guías internacionales de organismos especialistas en esta temática, de los cuales se pueden mencionar: United Nation Environment Program (UNEP); Food and Agriculture Organization (FAO); Intergovernmental Oceanographics Commission (IOC-UNESCO); International Atomic Energy Agency (IAEA); U.S Geological Survey (USGS); Instituto de Fomento Pesquero (IFOP); Mediterranean Action Plan (UNEPMAP); National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA); International Maritime Organization (IMO); United Nations Educational, Scientific and cultural Organization (UNESCO); World Health Organization (WHO); International Programme on Chemical Safety (INCHEM); United nations (UN); U.S Environmental Protection Agency (USEPA); The Ocean Conservancy.

- Empleo de metodologías analíticas bajo condiciones de aseguramiento de calidad (trazabilidad, control interno, validación, incertidumbre calculada), para la medición de metales y materia orgánica en muestras de sedimentos marinos recolectadas del Fiordo Aisén.



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.
ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

- Recopilación de antecedentes referentes al caso de estudio Fiordo Aisén, para la evaluación de los protocolos aplicados, georreferenciación de los resultados obtenidos en cuanto al contenido de metales y materia orgánica en muestras de sedimentos.
- A partir de la recopilación de antecedentes referida a muestreo y análisis de cuerpos de agua, se realiza un análisis de los aspectos relevantes y se obtienen los criterios que se traducen en la elaboración de las listas de chequeo y fichas estandarizadas para la información.



Universidad de Chile

CAPÍTULO VI: INFORME N° 1, “PROTOCOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO”.

El informe N°1 recopila los antecedentes recabados desde la literatura nacional e internacional para la elaboración y propuesta de los protocolos para el muestreo y análisis de muestras de agua, sedimentos y biota. Los parámetros y contaminantes relevantes considerados en el presente proyecto, se encuentran resumidos en la Tabla 3.

Tabla 3. Parámetros medidos en las distintas matrices

Parámetros indicadores								Contaminantes tóxicos					
								orgánicos			inorgánicos		
T°	O ₂	SS	S%o	Red.	M.O	N	P	DDT	Xileno	PCF	Hg	Cd	Pb
A		A	A					A	A	A	A	A	A
	S			S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
								B	B	B	B	B	B

T°: temperatura; O₂: Oxígeno; SS: Sólidos suspendidos; Red: Potencial redox; M.O: Materia orgánica; N: Nitrógeno; P: Fósforo; PCF: Pentaclorofenol; Hg: Mercurio; Cd: Cadmio; Pb: Plomo.

- A. Muestra de columna de agua
- S. Muestra de sedimento
- B. Biota



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.
ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

El informe se encuentra en el **ANEXO 1**, y en él se indican los procedimientos adecuados para el muestreo según cuerpo de agua, profundidad, tipo de sedimento y según objetivos.

CAPÍTULO VII: PRODUCTO: “INFORME N° 2, EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO; CASO DE ESTUDIO: FIORDO AISÉN”

El informe denominado “**Informe N°2, Evaluación de protocolos armonizados de muestreo y análisis de contaminantes relevantes en el medio marino; Caso de estudio: Fiordo Aisén**” se encuentra en el “**ANEXO 2**” y contiene información respecto de la aplicación y evaluación del protocolo de muestreo y análisis de sedimentos marinos, para un caso de estudio correspondiente al Fiordo Aisén.

En él se posicionan estaciones de muestreo desde la cabeza hasta la boca del Fiordo Aisén, las muestras de sedimento fueron analizadas en el Laboratorio de Química Ambiental del Centro Nacional del Medio ambiente, para la determinación de metales totales y de materia orgánica, siguiendo la metodología propuesta en los protocolos y los estándares de calidad e instructivos adecuados para el manejo de las muestras.



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.
ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

CAPITULO VIII: PRODUCTO: “FICHAS ESTANDARIZADAS PARA LA PRESENTACIÓN DE LA INFORMACIÓN OBTENIDA DE MUESTREOS Y ANÁLISIS EN CUERPOS DE AGUA”

Las fichas estandarizadas se construyeron en base a los antecedentes recopilados en Informe N°1, en ellas se sintetizan aquellos aspectos de importancia a considerar para la recopilación de los datos de muestreo y análisis, los que considera las profundidades de muestreo en cuerpos de agua estratificados, el tipo de muestreo de acuerdo a la profundidad (para agua y sedimentos), la recolección de biota (número de individuos, estandarización de las muestras colectadas), tipo de muestreador utilizado para sedimentos, etc.

Los formatos de las fichas fueron entregadas dentro del contenido del Informe N°1 (“Protocolos Armonizados de muestreo y análisis de contaminantes relevantes en el medio marino”), se incorpora en el presente informe en el **ANEXO 3**.

CAPITULO IX: PRODUCTO: “LISTA DE CHEQUEO ESTANDARIZADA PARA EVALUACIÓN DE LA CONSISTENCIA DE LA INFORMACIÓN CONTENIDA EN LAS FICHAS ESTANDARIZADAS”

La lista de chequeo, se presenta como un instrumento que permite evaluar la consistencia de la información colectada en las fichas.

El formato de lista de chequeo fue entregada entro de los contenidos del Informe N°1 (“Protocolos Armonizados de muestreo y análisis de contaminantes relevantes en el medio marino”), y se incorpora en el presente Informe consolidado en el **ANEXO 4**.



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.
ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

CAPITULO X: PRODUCTO: “MANUAL DE USO DE FICHAS ESTANDARIZADAS Y LISTA DE CHEQUEO”

El Manual para el uso de fichas y lista de chequeo, es el documento que entrega tanto las directrices del llenado y de la corroboración de los antecedentes, así como las terminologías, unidades de medición requeridas y estandarizadas, los códigos para las metodologías utilizadas, etc.

El informe que contiene el manual de uso de fichas y lista de chequeo se encuentra en **ANEXO 5**.



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.
ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

CAPÍTULO XI: CONCLUSIONES

Este estudio permite plantear las siguientes conclusiones:

- Se requieren de estudios para establecer valores de línea base de contaminantes en sedimentos marinos (metales, orgánicos)
- Se requiere establecer valores estimados (en base a recopilación de antecedentes nacionales - bioensayos), para determinar concentración de contaminantes críticos para la biota de ecosistemas marinos a nivel nacional.
- Se deben establecer más allá de las concentraciones puntuales de metales u otros contaminantes en organismos marinos, los efectos en la estructura y organización de las comunidades
- Se deben establecer los antecedentes o factores ambientales que tienen incidencia en la magnitud y residencia de las perturbaciones asociadas a los contaminantes en ambientes marinos.



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.
ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

CAPÍTULO XII: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Ahumada, R. 1998. Metales traza em los sedimentos: Una herramienta de gestión ambiental para La zona costera. En: Arcos D (Ed). Minería del cobre, ecología y ambiente costero. pp 297 – 315.
- Beder, Sh. 1989. Toxic fish and sewer surfing: How deceit and collusion are destroying our great beaches. Allen & Unwin (Sydney and Boston), 176 pp.
- Buschmann, A. y Fortt, A. 2005. Industria y Contaminación. Documento 19. Oceana.38 pp.
- Coale, K. 1991. Effects of iron, manganese, copper, and zinc enrichment on productivity and biomass in the subarctic Pacific. *Limnol. Oceanogr.* 36 (8): 1851 – 1864.
- Constanza, R., D' Arge, R., De Groot, R., Farber, S., Grasso, M., Hannon, B., Limburg, K., Naeem, Sh., O'Neill, R., Paruelo, J., Raskin, R., Sutton, P. y Van den Belt, M. 1997. The value of the World's ecosystem services and natural capital. *Nature.* 138: 253 – 260.
- Cortés, N y Montalvo, S. 2010. Aguas: Calidad y Contaminación. Un enfoque Químico Ambiental. Fundación Centro Nacional del Medio Ambiente. 328 pp.



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.
ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

- Gerhardt, A. 1993. Review of impact of heavy metals on stream invertebrates with special emphasis on acid conditions. *Water Air Soil Pollut.* 66: 289 – 314.
- Gray, C., Otway, N., Laurenson, F., Miskiewicz, A. y Pethebridge, R. 1992. Distribution and abundance of marine fish larvae in relation to effluent plumes from sewage outfalls and depth of water. *Marine Biology.* 113: 549 – 559.
- Kraemer, A. , Choudhury, K. y Kampa, E. 2001. *Protecting Water Resources: Pollution Prevention*, Thematic Background Paper – International Conference on Freshwater Bonn 2001, Secretariat of the International Conference on Freshwater Bonn 2001 (Ed) Bonn, 2001, ([http://: www.water-2001.de](http://www.water-2001.de))
- Márquez, A., Senior, W., Martínez, G. y González, A. 2007. Concentraciones de nitrógeno y fósforo en sedimentos recientes de la laguna Los Patos, Estado Sucre, Venezuela. *Publicaciones Científicas de la Universidad de Oriente, Boletín del Instituto Oceanográfico de Venezuela.* 46. 1 y 2.
- Smith, R. 1997. *Ecology and Field Biology*. Tercera edición. Harper & Row, Nueva York.
- Vásquez, J. y Guerra, N. 1996. The use of seaweeds as bioindicators of natural and anthropogenic contaminants in northern Chile. *Hydrobiologia.* 326 – 327: 327 – 333.



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.
ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

- Vázquez, J., Vega, J., Matsuhira, B y Urzua, C. 1999. The ecological effects of mining discharges on subtidal habitats dominated by macroalgae in northern Chile: population and community level studies. *Hydrobiologia*. 398 – 399: 217 – 229.
- Vázquez, J. 2000. Efectos de los desechos de la minería en la biodiversidad de fondos rocosos submareales en el norte de Chile. En: *Sustentabilidad de la Biodiversidad. Un problema actual, bases científico-técnicas, teorizaciones y perspectivas*. K. Alveal & T. Antezana (Eds.).
- Weis, J.S y Weis, P. 1989. Tolerance and stress in a polluted environment: The case of the mummichog. *BioScience*.39: 89 – 95.
- Wells, H. W. 1961. The fauna of oyster beds, with special reference to the salinity factor. *Ecological Monographs* 31: 239-266.
- Zauke, G. y Petri, G. 1993. Metal concentration in Antarctic crustacean: The problem of background levels. En: Dallinger, R y Rainbow, P. (Eds): *Ecotoxicology of metals in invertebrates*: 73 – 101, Boca Ratón, USA (Lewis Publisher).



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.
ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

CAPÍTULO XIII: ANEXOS



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.
ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

ANEXO 1. Informe Técnico N°1, “ Protocolos Armonizados de Muestreo y Análisis de contaminantes relevantes en el medio marino”.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO
PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

INFORME TÉCNICO N°1

“PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO”

Elaborado por el Centro Nacional del Medio Ambiente
(CENMA) para el Ministerio del Medio Ambiente (MMA)

Santiago de Chile

Noviembre 2011



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Informe preparado por:

Dra. Isel Cortes Nodarse

Jefe de Laboratorio de Química Ambiental-CENMA

Profesor Adjunto. Facultad de Ciencias - Universidad de Chile

MSc (c) Ana Silva Solís de Ovando

Biólogo Marino – Profesional de Apoyo proyectos - CENMA

Este Informe debe ser citado como:

I., Cortés y Silva, A. "Protocolos Armonizados de Muestreo y Análisis de Contaminantes Relevantes en el Medio Marino." INFORME TÉCNICO N°1. NOVIEMBRE 2011.

Revisado y aprobado por:

Dr. Ítalo Serey Estay

Director Ejecutivo

Fundación Centro Nacional del Medio Ambiente.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Participantes del proyecto y sus funciones:

Dra. Isel Cortés Nodarse	Coordinación general y dirección del proyecto
MSc (c) Ana G. Silva Solís de Ovando	Elaboración de Informes Técnicos y Finales, recopilación bibliográfica, elaboración de cartografía.

Más información

Centro Nacional del Medio Ambiente

Av. Larraín 9975, La Reina, Santiago de Chile

788-0096 LA REINA

Teléfono: (56-2) 927-5570 Fax : (56-2) 275-1688

<http://www.cenma.cl>



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	11
2. OBJETIVOS	13
2.1 Objetivo General	13
2.2 Objetivos Específicos	13
3. ANTECEDENTES REVISADOS	14
4. CONSIDERACIONES GENERALES DEL MUESTREO	19
4.1 Estrategias de muestreo	19
4.2 Documentación	24
4.3 Integridad de las muestras	26
4.4 Representatividad	27
4.5 Controles de Calidad en terreno	27
4.6 Transporte y tiempo de almacenamiento	28
5. COLECCIÓN DE MUESTRAS; GENERALIDADES	29
5.1 Tipo de muestra	29
5.2 Columna de agua	31
5.2.1 Equipos de Muestreo – Columna de agua	37
5.3 Sedimentos	42
5.3.1 Equipos de Muestreo – Sedimentos	43
5.4 Especies Biológicas	46
5.4.1 Equipos de Muestreo – Especies biológicas	49
5.5 Almacenamiento de muestras	52
5.6 Preservación de muestras	55
5.7 Control de Calidad Q/C	63
6. PROTOCOLOS DE MUESTREO	72



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

6.1	Columna de agua	72
6.2	Sedimentos	77
6.3	Organismos biológicos	81
7.	PROTOCOLOS DE ANÁLISIS	90
7.1	COLUMNA DE AGUA	90
a.	TEMPERATURA – 2550 B (STANDARD METHODS FIELD MEASUREMENTS) 90	
b.	SALINIDAD – 2520 B (SALINITY - STANDARD METHODS).....	93
c.	SÓLIDOS SUSPENDIDOS – 2540 D (TOTAL SUSPENDED SOLIDS DRIED AT 103 – 105° C - STANDARD METHODS).....	97
d.	METALES (3020 A; 3112 B – STANDARD METHOD).....	111
e.	XILENO – 6200 B (VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS; PURGE AND TRAP CAPILLARY-COLUMN GAS CHROMATOGRAPHIC/MASS SPECTROMETRIC - STANDARD METHODS)	124
f.	PENTACLOROFENOL – 6420 - B (PHENOLS, LIQUID-LIQUID EXTRACTION GAS CHROMATOGRAPHIC - STANDARD METHODS).....	129
g.	DDT – EPA, 1980.....	137
7.2	SEDIMENTOS	148
a.	POTENCIAL REDOX – RESOLUCIÓN 404/2003 (MINISTERIO DE ECONOMÍA FOMENTO Y RECONSTRUCCIÓN - SUBSECRETARÍA DE PESCA)	148
b.	OXÍGENO DISUELTO – 4500 – O B	155
c.	MATERIA ORGÁNICA – BS 1377 - 1990	166
d.	NUTRIENTES (NITRÓGENO Y FÓSFORO) – 4500 C NITROGEN (ORGANIC) – FAO, 1975.....	174
e.	METALES – 3050 B (EPA)	183
f.	XILENO – 5021 (VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS IN SOILS AND OTHER SOLID MATRICES USING EQUILIBRIUM HEADSPACE ANALYSIS) / 8021 B...	189



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

g. PENTACLOROFENOL – 8041 A (PHENOLS BY GAS CHROMATOGRAPHY)	
194	
7.3 ORGANISMOS BIOLÓGICOS	206
a. METALES (MERCURIO, CADMIO, PLOMO) – 320 A/ 7010 (EPA)	206
b. XILENO – 8021 B (AROMATIC AND HALOGENATED VOLATILES BY GAS CHROMATOGRAPHY USING PHOTOIONIZATION AND/OR ELECTROLYTIC CONDUCTIVITY DETECTORS) Ó 8260B (VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS BY GAS CHROMATOGRAPHY/ MASS SPECTROMETRY (GC/MS))	219
c. PENTACLOROFENOL – U.S EPA, 1986 (GAS CROMATOGRAPHY OF EXTRACTABLES COMPOUNDS)(1625 EPA)	225
d. DDT – EPA, 1980	228
8. PROPUESTA DE ESPECIES MARINAS PARA EL MONITOREO	235
9. LISTA DE CHEQUEO	258
10. FICHA ESTANDARIZADA	261
11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	266
12. ANEXOS (los anexos se entregan en copia digital)	284



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Antecedentes revisados.....	14
Tabla 2. Recomendaciones para la preservación y almacenamiento de muestras líquidas.....	57
Tabla 3. Recomendaciones sobre contenedores, tiempos de duración de las muestras y condiciones de preservación para los análisis de sedimentos más comunes.	61
Tabla 4. Criterios de aceptabilidad para la toma de muestras de sedimento.	80
Tabla 5. Ejercicio de interlaboratorio para medir la precisión del método	121
Tabla 6. Límites de detección y tiempos de retención del método	125
Tabla 7. Nivel de detección del método	131
Tabla 8. Relación entre oxígeno y la reducción de iones	152
Tabla 9. Fenoles y MDLs (method detection limit) que se estudian por medio del método EPA 8041	194
Tabla 10. Métodos recomendados para la determinación de VOCs	224
Tabla 11. Antecedentes revisados.....	241
Tabla 12. Ficha descriptiva de la especie <i>Mytilus Chilensis</i> (Hupé, 1854)	253
Tabla 13. Ficha descriptiva de la especie <i>Nephtys impressa</i> (Género <i>Nephtys</i> ; Cuvier, 1817).....	256
Tabla 14. Ficha estandarizada para la información, muestreo columna de agua..	262
Tabla 15. Ficha estandarizada para la información, muestreo sedimentos.....	263
Tabla 16. Ficha estandarizada para la información, muestreo sedimentos (continuación)	264
Tabla 17. Ficha estandarizada para la información, muestreo biológico	265



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Muestreos probabilísticos. a. Muestreo aleatorio; b. Muestreo sistemático; c. Muestreo aleatorio estratificado.	23
Figura 2. Presencia de estratificación en océanos. a. Pícnoclina; b. Termoclina	33
Figura 3. Clasificación de estuarios por salinidad. a. Altamente estratificado; b. Estuarios estratificados; c. Estuarios verticalmente mezclados.....	36
Figura 4. a-b. Muestreo desde superficie; c. Botella Van Dorn horizontal; d. Botella Van Dorn vertical; e - f. Funcionamiento botella Niskin	39
Figura 5. CTD, (conductividad, temperatura y densidad)	41
Figura 6. Equipos de muestreo de sedimentos. a. muestreo por medio de box corer; b. box corer con muestra; c. box corer; d. Draga Vanveen; e. Draga Eckman.....	45
Figura 7. Forma correcta para la toma de muestra de sedimentos mediante draga.	46
Figura 8. Metodologías de muestreos de organismos marinos. a. muestreo del bentos mediante draga; b. muestreo del intermareal mediante recolección a mano; c-d. Grilla en el submareal (mediante buceo) e. Intermareal (recolección manual), para el muestreo de bivalvos; f. uso de corer para el muestreo de meiofauna.	51
Figura 9. a. Preservación de la muestra; b. Etiquetado y envasado; c. Transporte de las muestras.....	59
Figura 10. Factores que afectan la calidad de los datos obtenidos en diferentes fases de investigación de contaminación.....	64
Figura 11. Toma de muestra de agua por vadeo.....	74
Figura 12. a. Medida de tamaño en bivalvos; b. Medida de tamaño en crustáceos.....	89



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Figura 13. Balanza analítica empleada para la determinación de sólidos en muestras de agua.	99
Figura 14. Diagrama de flujo para el análisis de sólidos totales.	103
Figura 15. Diagrama de flujo, pasos para llevar a cabo el análisis de sólidos suspendidos totales.	107
Figura 16. Diagrama de flujo para la realización del análisis de sólidos fijos y volátiles.	110
Figura 17. Diagrama de flujo para la realización del análisis de metales.	120
Figura 18. Diagrama de flujo, pasos para llevar a cabo el análisis de DDT en agua.	147
Figura 19. Perfil vertical de potencial redox en sedimentos.....	151
Figura 20. Predominancia de especies químicas	151
Figura 21. a. Calibración para la medición de potencial redox; b. Medición de potencial redox dentro de draga.	154
Figura 22. Procesos químicos, físicos y biológicos que afectan las concentraciones de oxígeno disuelto.....	156
Figura 23. Niveles de oxígeno disuelto para la vida de organismos marinos.....	158
Figura 24. Diagrama de flujo, pasos para llevar a cabo el análisis de oxígeno disuelto.....	165
Figura 25. Diagrama de flujo para llevar a cabo el análisis de materia orgánica... ..	173
Figura 26. Diagrama de flujo, para llevar a cabo el análisis de metales (Extracción fuerte).....	187
Figura 27. Diagrama de flujo, para llevar a cabo el análisis de metales (Extracción débil).	188
Figura 28. Diagrama de flujo para llevar a cabo el análisis de DDT en sedimentos.	205
Figura 29. Corte del músculo abductor	211



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Figura 30. a. Bivalvo (<i>Mytilus sp</i>); b y c. Tejidos blandos	212
Figura 31. a. Poliquetos (<i>Nephtys impressa</i>); b. anatomía interna de poliqueto ...	213
Figura 32. Diagrama de flujo para llevar a cabo el análisis de DDT en organismos marinos.	218
Figura 33. Diagrama de flujo para llevar a cabo el análisis de DDT en organismos marinos.	234



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

1. INTRODUCCIÓN

Los ambientes marinos costeros están siendo impactados en forma creciente por las actividades humanas. Además, perturbaciones asociadas a cambios climáticos pueden producir cambios dramáticos e irreversibles en estos ecosistemas. El monitoreo de largo plazo juega un rol fundamental e irremplazable para establecer líneas-base sobre las cuales podemos establecer impactos actuales y futuros y distinguir entre cambios antropogénicos y fluctuaciones naturales.

Alrededor del 70%–75% de la contaminación marina global es producto de las actividades humanas que tienen lugar en la superficie terrestre. Un 90% de los contaminantes es transportado por los ríos al mar. Por otro lado, entre un 70% y 80% de la población mundial (aproximadamente 3.6 billones de personas) se ubica en las costas o cerca de ellas, especialmente en zonas urbanas, donde una parte importante de los desechos que allí se producen se deposita directamente en el océano. Como consecuencia, muchos ecosistemas críticos, algunos únicos en el mundo, tales, han sido alterados más allá de su capacidad de recuperación (Escobar, 2002).

El monitoreo marino es un amplio campo que abarca objetivos muy diversos. Todos los programas de monitoreo, sin embargo, están vinculados pues procuran monitorear cambio(s) de una variable durante un cierto período. Este no está dirigido a una amenaza en particular, pero se monitorean rasgos que pueden indicar la presencia de estas amenazas. Además, el monitoreo se puede utilizar para establecer datos de referencia y umbrales, así como para entender el comportamiento y la función de sistemas marinos.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Para llevar a cabo esta tarea, existen numerosas herramientas para la ayuda en el monitoreo y análisis de compuestos xenobióticos en ambientes marinos, pero muchos de estos se encuentran dispersos y con información no comparable entre ellos, por lo cual no permiten hacer un uso eficiente hasta ahora de la data colectada sobre calidad de ambientes marinos debido a su falta de estandarización.

En el presente informe se entregan protocolos tanto para el muestreo como análisis de contaminantes relevantes en el medio marino (agua, sedimentos y componentes biológicos), y que tiene como finalidad convertirse en una herramienta guía para la homogeneización de la data de ambientes marinos, para los futuros procesos de monitoreo tanto por la autoridad competente como por organismos sectoriales y sector privado.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

2. OBJETIVOS

Los objetivos del presente proyecto, planteados en los términos de referencia se indican a continuación.

2.1 Objetivo General

- Apoyar la armonización de criterios de muestreo y análisis tendientes a la modelación del estado de calidad de estuarios y bahías y la estimación de su capacidad para recibir contaminantes seleccionados.

2.2 Objetivos Específicos

- Desarrollar un protocolo armonizado para la obtención de datos válidos que permitan alimentar el modelo EFDC, con aplicación a estuarios y bahías.
- Elaborar fichas estandarizadas para la presentación de la información obtenida de muestreos y análisis en cuerpos de agua marinos.
- Elaborar listas de chequeo estandarizadas para evaluar la consistencia de la información contenida en las fichas.

3. ANTECEDENTES REVISADOS

A continuación se indican las fuentes de información revisadas para la elaboración del presente protocolo:

Tabla 1. Antecedentes revisados

TÍTULO	AÑO	AUTOR	CÓDIGO
ANTECEDENTES PROTOCOLOS EN ORGANISMOS MARINOS			
“Guidelines for monitoring chemical contaminants in the sea using marine organism”. Reference Methods for Marine Pollution Studies N°7, Rev. 2	1992	UNEP ¹ / FAO ² /IOC ³ / IAEA ⁴	
“Sampling of selected marine organisms and sample preparation for trace metal analysis”	1984	UNEP/FAO/IAEA/ OC	
“Analytical Methods for U.S EPA priority pollutants and 301 (h) pesticides in tissue from estuarine and marine organisms”	1986	U.S Environmental Protection Agency	EPA 503/6-90-002

¹ United Nation Environment Program, www.unep.org

² Food and Agriculture Organization, www.fao.org

³ Intergovernmental Oceanographics Commission, www.ioc-unesco.org

⁴ International Atomic Energy Agency, www.iaea.org



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Continuación **Tabla 1**

“ Estuarine and Coastal Marine Waters: Bioassessment and Biocriteria Technical Guidance”	2000	U.S Environmental Protection Agency	EPA 822/B-00-024
“ Methods for determination of Chemical Substances in Marine and Estuarine Environmental Samples”	1992	U.S Environmental Protection Agency	EPA 600/R-92-121
“Compendium of trace metals and marine biota” Vol. 1. Plants and Invertebrates.	2010	Ronald Eisler, ELSEVIER, 610 pp.	ISBN (Vol. 1): 978-0-444-53436-1
“Methods for the study of Marine Benthos”	2005	Eleftheriou, Anastasios & McIntyre, Alasdair. Blackwell Science. 442 pp.	ISBN 0-632-05488-3
“Methods for Collecting Benthic Invertebrate Samples as part of The National Water – Quality Assessment Program”	1993	USGS ⁵	Open-File Report 93-406
“Manual de procedimientos para la toma de muestras de Macrofauna”	2009	IFOP ⁶	

⁵ U.S Geological Survey, www.usgs.gov

⁶ Instituto de Fomento Pesquero, www.ifop.cl



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Continuación **Tabla 1**

ANTECEDENTES PROTOCOLOS EN SEDIMENTOS			
“Contaminated Sediments”	1990	U.S Environmental Protection Agency	EPA 506/6-90/003
“Sediment Sampling Quality Assurance User’s Guide”	1985	U.S Environmental Protection Agency	EPA 600/4-85-048
“Methods for Sediment Sampling and Analysis”	2005	UNEP/MED ⁷	
“Procedural and Monitoring Guidance”	1994	U.S Environmental Protection Agency	EPA 842/8-94-003
“Handbook for Sampling and Sample Preservation of Water and Wastewater”	1982	U.S Environmental Protection Agency	EPA 600/4-82-029
“Contaminants in Aquatic Habitats at hazardous waste sites: Mercury”	1996	NOAA ⁸	
“Methods for Collection, Storage and Manipulation of Sediments for Chemical and Toxicological Analyses: Technical Manual”	2001	U.S Environmental Protection Agency	EPA 823/B-01-002
“Compendium of Methods for Marine and Estuarine Environmental Studies”	1989	U.S Environmental Protection Agency/NOAA	EPA 503/2-89-001

⁷ Mediterranean Action Plan, www.unepmap.org

⁸ National Oceanic and Atmospheric Administration, www.noaa.gov



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Continuación **Tabla 1**

“Ecology of Marine Sediments”, from science to management. Second Edition	2009	Gray, John & Elliott, Michael. 241pp.	ISBN 978-0- 19-856901- 5 (hbk.)
“Guidance on Assessment of Sediment Quality”	1999	IOC/ UNEP/IMO ⁹ .	
“National Field Manual for Collection of Water - Quality data”Chapter A8 Bottom Material”	2005	USGS	
ANTECEDENTES PROTOCOLOS EN AGUA			
“National Field Manual for the collection of Water – Quality Data”	2003	USGS	
“ Laboratory Methods Manual”	2010	U.S Environmental Protection Agency	EPA 841/R- 09-002
“Field Sampling Manual”	2003	Ministry of water, Land and air protection , British Columbia	ISBN 0- 7726-2741-X
“Oceanographics Survey Techniques and Living resources Assessments Methods” IOC Manuals and Guides N°32.	1996	UNESCO ¹⁰	

⁹ International Maritime Organization, www.imo.org

¹⁰ United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization, www.unesco.org



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Continuación **Tabla 1**

“ Protocols for Marine Environmental Monitoring”	2002	Ministry of water, Land and air protection , British Columbia	
“ Field Operations Manual”	2010	U.S Environmental Protection Agency	EPA 841/R-09-003
“ Water Quality Assessment – A guide to Use of Biota , Sediments and Water in Environmental monitoring” Second Edition	1996	UNESCO/WHO ¹¹ / UNEP	ISBN 0 419 21590 5
“ Chemical Methods for use in Marine Environmental Monitoring”	1983	UNESCO/IOC	
“ Environmental Design and Analysis in Marine Environmental Sampling”	1996	UNESCO/IOC	
“Environmental Health Criteria 71, Pentachlorophenol”	1987	IPCS ¹² -INCHEM ¹³	
“Environmental Health Criteria 83, DDT and its derivatives – Environmental aspects”	1987	IPCS-INCHEM	

¹¹ World Health Organization, www.who.int

¹² International Programme on Chemical Safety, <http://www.inchem.org/>

¹³ Chemical Safety Information from Intergovernmental Organization, <http://www.inchem.org/>



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Continuación **Tabla 1**

“Environmental Health Criteria 9, DDT and its derivatives”	1987	IPCS-INCHEM	
“Technical Report: Guidance to operation of water quality laboratories”	2002	UN ¹⁴ / ECE	
“Volunteer estuary Monitoring “, a methods manual.	2006	EPA/ The ocean Conservancy	
“Methods for Chemical Analysis of Water” and Wastes”	1983	EPA	EPA 600/4-79-020

4. CONSIDERACIONES GENERALES DEL MUESTREO

4.1 Estrategias de muestreo

La operación de muestreo consta de una serie de etapas que permiten que la muestra que será analizada posteriormente sea lo más representativa del lugar de muestreo. Este proceso incluye seleccionar, tomar, preservar, transportar y preparar las muestras. Los detalles del plan de muestreo dependerán del problema analítico y del objetivo que se persiga (Gy, 1998).

¹⁴ United Nations, www.un.org



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

El plan de toma de muestra se diseñará para evitar la contaminación de la muestra en el momento de tomarla (para minimizar este problema habrá que seleccionar el equipo adecuado en función del lugar de muestreo), para elegir el momento de tomarla (habrá que tener en cuenta las condiciones meteorológicas), para preservar los analitos a determinar, para seleccionar el número de muestras, el tamaño de las mismas y su distribución (temporal y espacial), etc. (Crosby y Patel, 1995).

En primer lugar, el diseño de la operación de muestreo depende del objetivo del análisis.

No es lo mismo determinar la composición media del efluente de una estación depuradora de agua residual urbana que la calidad de un agua localizada en un cuerpo de agua. En el primer caso, interesará la composición media de diferentes analitos con el tiempo y en el punto de salida, mientras que en el segundo resultará importante conocer la heterogeneidad en su composición en todo el cuerpo de agua (considerando también la profundidad).

Los objetivos típicos de un diseño para el muestreo son:

- Apoyar la decisión sobre cuáles son los niveles de contaminación que exceden los límites de riesgo aceptable.
- Identificar la localización de áreas con altos niveles de contaminación o la dirección y alcance de las plumas de dispersión de contaminantes
- Caracterizar la naturaleza y extensión de la contaminación en un determinado sitio
- Monitorear las tendencias en el espacio y tiempo de indicadores de salud del ambiente de interés.

El diseño de la etapa de toma de muestra dependerá si se basa en la experiencia (no probabilística) o si se considerarán criterios estadísticos (probabilística). En este



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

último caso, puede contemplarse que la toma de muestra sea aleatoria o sistemática.

Toma de muestra no probabilística

La toma de muestra no probabilística es una estrategia basada en el juicio previo del analista (muestreador). Esta forma de muestreo es la más cómoda (accesibilidad, oportunidad) y también la de menor costo. Este tipo de estrategia de muestreo está dirigida a minimizar el efecto de los factores secundarios que puedan aportar variabilidad por medio de la utilización de toda la información de que se dispone al planificar la toma de muestra, permitiendo que esta se realice en puntos que sean representativos del objetivo que se persigue. Para aplicar con éxito este tipo de muestreo es necesario disponer de mucha información de la zona de localización.

Este tipo de estrategia no probabilística puede utilizarse también como una etapa previa para realizar un plan de muestreo probabilístico posterior.

Cuando no se dispone de suficiente información y cuando se busca una muestra lo más representativa posible, es necesario llevar a cabo una toma de muestra probabilística. Dentro de los muestreos probabilísticos encontramos los siguientes tipos:

Muestreo aleatorio: En este tipo de toma de muestra, las porciones se extraen de forma que cualquiera de ellas tiene la misma probabilidad de ser seleccionada. Se suele utilizar cuando se dispone de poca información de la zona de muestreo. Es muy difícil asegurar una toma completamente aleatoria, ya que tomar muestras al azar no es igual que tomarlas según un patrón aleatorio. Por ello, para este tipo de



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

toma de muestra se suelen utilizar programas matemáticos que generan números aleatorios. Este número aleatorio puede relacionarse con la hora o con el lugar de toma. Para aquellas situaciones donde la población consiste en una gran superficie o volumen de agua es conveniente previamente dividir de forma geométrica el lugar y numerar cada porción. (Figura 1. a).

Muestreo Sistemático: Este procedimiento exige, como el anterior, numerar todos los elementos de la población, pero en lugar de extraer n números aleatorios sólo se extrae uno. Se parte de ese número aleatorio i , que es un número elegido al azar, y los elementos que integran la muestra son los que ocupa los lugares $i, i+k, i+2k, i+3k, \dots, i+(n-1)k$, es decir se toman los individuos de k en k , siendo k el resultado de dividir el tamaño de la población entre el tamaño de la muestra: $k = N/n$. El número i que empleamos como punto de partida será un número al azar entre 1 y k .

El riesgo este tipo de muestreo está en los casos en que se dan periodicidades en la población ya que al elegir a los miembros de la muestra con una periodicidad constante (k) podemos introducir una homogeneidad que no se da en la población. Imaginemos que estamos seleccionando una muestra sobre listas de 10 individuos en los que los 5 primeros son varones y los 5 últimos mujeres, si empleamos un muestreo aleatorio sistemático con $k=10$ siempre seleccionaríamos o sólo hombres o sólo mujeres, no podría haber una representación de los dos sexos. (Figura 1. b).

Muestreo aleatorio estratificado: Trata de obviar las dificultades que presentan los anteriores ya que simplifican los procesos y suelen reducir el error muestral para un tamaño dado de la muestra. Consiste en considerar categorías típicas diferentes entre sí (estratos) que poseen gran homogeneidad respecto a alguna característica

(se puede estratificar, por ejemplo, según la profesión, el municipio de residencia, el sexo, el estado civil, etc.). Lo que se pretende con este tipo de muestreo es asegurarse de que todos los estratos de interés estarán representados adecuadamente en la muestra. Cada estrato funciona independientemente, pudiendo aplicarse dentro de ellos el muestreo aleatorio simple o el estratificado para elegir los elementos concretos que formarán parte de la muestra. En ocasiones las dificultades que plantean son demasiado grandes, pues exige un conocimiento detallado de la población. (Tamaño geográfico, sexos, edades, etc.). (Figura 1. c).

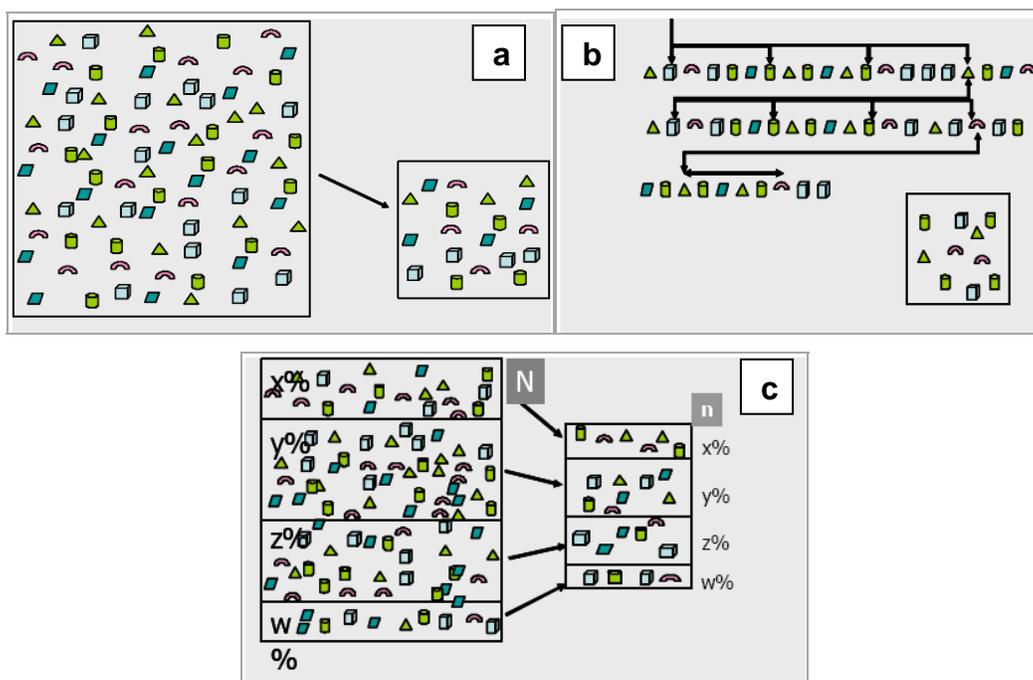


Figura 1. Muestreos probabilísticos. a. Muestreo aleatorio; b. Muestreo sistemático; c. Muestreo aleatorio estratificado.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

4.2 Documentación

El mantenimiento de una documentación (e.g., notas de campo) adecuada antes, durante y después de la toma de muestra es siempre aconsejable ya que, en ocasiones, un registro exacto de las actividades realizadas puede ayudar a resolver cualquier duda que exista con respecto a la muestra. Un libro debidamente encuadernado y, preferentemente, con páginas protegidas contra la acción del agua debe documentar, en detalle, toda actividad realizada en el lugar relacionada con la toma de muestra. La información que debe registrarse incluye, como mínimo, hora y fecha de la recolección de la muestra, nombres y cargos de las personas que realizan la actividad, adecuada identificación de los recipientes, lista de muestras obtenidas, preservantes utilizados, muestras relacionadas con el control de calidad de la actividad, estado del tiempo y condiciones del lugar. Todo registro debe hacerse con tinta indeleble y las correcciones necesarias se deben hacer trazando una línea sobre la anotación incorrecta, agregando las iniciales de la persona y la fecha en que se hace la corrección. La descripción completa del lugar de muestreo puede ser complementada con fotos tomadas in situ. Una buena documentación fotográfica es la mejor manera de asegurar que cada sitio de muestreo es identificado correctamente.

Uno de los documentos más importantes a mantener es la cadena de custodia. Esta forma documenta la historia de la muestra desde su toma hasta su ingreso al laboratorio. La cadena de custodia describe e identifica la muestra, quien fue la persona que realizó la toma y el tipo de recipiente utilizado, incluyendo dónde y cuándo la muestra fue tomada. La hoja de registro tiene, además, lugares para registrar la firma, fecha y hora cuando la muestra pasa de mano en mano hasta su llegada al laboratorio. De manera similar, y como continuación de la documentación



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

de campo, se debe contar con otro registro donde conste el recorrido de la muestra desde su ingreso al laboratorio hasta el reporte de resultados.

Toda documentación relacionada con la operación de muestreo y el posterior análisis de las muestras es importante y debe archiversse apropiadamente aún hasta después de finalizado el estudio.

La toma de muestras en cada una de las tres estaciones de un sitio predeterminado deberá ser documentada in situ y debe contener, como mínimo, la siguiente información:

- Fecha y hora de la toma de cada muestra
- Nombre del sitio y código de la estación
- Coordenadas del Posicionador Global Satelital (WGS 84, UTM) correspondientes al sitio.
- Temperatura y salinidad del agua de mar
- Descripción del sitio y, si es costero, del lugar de acceso al mismo (e.g., rampa de lanchas). Indicar si se toman fotografías
- Técnica de muestreo utilizada y tipo de muestras tomadas
- Descripción de la muestra (agua = olor, turbiedad, presencia de espuma, etc.; sedimento= olor, color, textura, etc.; biota = cantidad, tamaño aproximados, etc.), incluyendo recipiente utilizado y código único de la muestra
- Datos hidrográficos y meteorológicos (dirección y velocidad de marea, estado del mar, profundidad, porcentaje de nubes, velocidad y dirección del viento)



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOSCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Incluya cualquier otra información que considere relevante, ya sea referente al sitio/estaciones de muestreo o a un evento ocurrido a bordo que pudiera haber comprometido la muestra
- Nombre y firma de la persona que tomó la muestra

4.3 Integridad de las muestras

Todas las muestras deberán estar identificadas de forma inequívoca. Los recipientes donde se colocan las muestras deben ser marcados correctamente al momento de tomar las mismas.

Siempre que sea posible, el marcado se realizará directamente sobre el recipiente de la muestra o mediante el uso de una etiqueta engomada. La etiqueta debe ser resistente al agua y debe mostrar, en tinta indeleble, el nombre de la persona que realizó la toma de muestra, fecha, hora y lugar exacto en donde la muestra fue recogida, preservantes agregados, tipo de análisis a realizar y código identificador único de la muestra.

Para asegurar la integridad de las muestras, puede ser necesario contar con un lugar de almacenamiento de acceso limitado o controlado. La cadena de custodia es el documento principal relacionado con la integridad de la muestra y registra cada persona que tiene contacto con la misma y el tiempo por el cual es responsable de ella.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

4.4 Representatividad

del mismo y extrapolar el resultado. Por este motivo, se han desarrollado diferentes diseños de muestreos en un intento de lograr muestras lo más representativas posible. Varios contaminantes ambientales (e.g., hidrocarburos, plaguicidas) pueden solamente ser analizados en muestras individuales y la representación del sistema se logra con la toma repetitiva de muestras sobre un período de tiempo y promediando o analizando los resultados.

El concepto de muestreo múltiple con el objeto de obtener una información integral de la zona de estudio se puede formalizar dentro de una serie de variables. Estas variables puede ser, por ejemplo, el tiempo, donde las muestras son tomadas en el mismo lugar en intervalos regulares de tiempo, o el espacio, donde las muestras son tomadas a distancias regulares ya sea en forma vertical u horizontal. Estas muestras pueden ser recogidas en las mismas condiciones, almacenadas y analizadas individualmente para caracterizar un área o pueden ser combinadas en una sola para formar una muestra representativa de donde se analiza una sub-muestra.

4.5 Controles de Calidad en terreno

Cuando se esperan concentraciones bajas de contaminantes, es particularmente importante analizar distintas muestras que ayuden a evaluar la calidad de los procedimientos de muestreo. Por ejemplo:

- *Blancos*: Consiste en colocar agua libre de contaminantes en un recipiente, similar al destinado a contener la muestra, con el agregado de los



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

preservantes que se van a utilizar, llevada al campo y regresada al laboratorio para ser analizada con las muestras regulares. Esta muestra en blanco sirve para evaluar la calidad de los recipientes, pureza de los preservantes y el potencial de contaminación in situ.

- *Duplicados de campo*: Consiste en la toma de una muestra regular dividida en dos o más recipientes para su análisis como muestras regulares. Se controla de esta manera la consistencia de la técnica de muestreo y posterior análisis. Este tipo de muestras no debe confundirse con muestras duplicadas, las cuales son muestras recogidas mediante dos eventos de muestreo distintos en el mismo sitio y sirven para evaluar, mediante el análisis en el laboratorio, la variación natural en la concentración de contaminantes presente en el área de estudio.

4.6 Transporte y tiempo de almacenamiento

El tiempo transcurrido entre la toma de muestra hasta su análisis en el laboratorio es de una importancia crítica ya que, independientemente del tipo de conservación utilizada, existe la posibilidad de una degradación de los compuestos de interés con el tiempo. Es recomendable que las muestras se envíen al laboratorio dentro de las 24 horas de tomadas donde deberán ser almacenadas adecuadamente y de acuerdo al tipo de muestra y análisis.

El tiempo máximo de almacenamiento de muestras destinadas al análisis de compuestos tanto orgánicos como inorgánicos ha sido motivo de preocupación y existen en la literatura una variedad de tablas y gráficas que sugieren los tiempos



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

de almacenamiento máximos para distintas muestras y tipos de análisis; parte de esa información es resumida en las secciones correspondientes a los tipos de muestras. El tiempo de almacenamiento indicado en la literatura y en métodos oficiales es variable y, con frecuencia, conflictivo aunque sirven de guía para realizar los análisis dentro de un lapso de tiempo que no comprometa la integridad de la muestra.

5. COLECCIÓN DE MUESTRAS; GENERALIDADES

5.1 Tipo de muestra

Las técnicas de muestreo varían de acuerdo con la situación específica y según los objetivos previstos; algunos estudios requieren solamente muestras instantáneas o simples, mientras que en otros se necesita disponer de muestras compuestas o aún más elaboradas en tiempo y espacio. Muchas de las generalidades referentes a las técnicas de muestreo y conservación, se encuentran plasmadas en las Normas Técnicas NTC-ISO 5667-2 y 5667-3.

Muestras sencillas y compuestas: En los estudios de caracterización fisicoquímica de aguas naturales generalmente se necesita recolectar muestras sencillas, mientras que para vertimientos domésticos e industriales se aplican muestras compuestas debido a la variación horaria de su caudal, por tal razón son muy utilizadas en el monitoreo de ríos, vertimientos o procesos industriales en línea. Para su adquisición se recolectan muestras parciales cada 2 ó 3 horas, cuyo volumen se obtiene según la siguiente relación:



INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

$$V_p = Q_p \times \left(\frac{V_c}{N \times Q} \right)$$

V_p : Volumen de cada muestra parcial (ml)

V_c : Volumen de muestra compuesta (ml)

Q_p : Caudal parcial del agua (m seg-1)

Q : Caudal promedio (m seg-1)

N : Número de muestras parciales

En algunos estudios de calidad ambiental marina es necesario el monitoreo de afluentes con el fin de conocer las descargas y el volumen de contaminantes que llegan al mar, por tal motivo es necesario realizar muestreos compuestos para lograr la correcta caracterización de dichos afluentes (que pueden ser ríos o descargas de aguas residuales).

Muestras periódicas (o discontinuas): Cuando se realiza la toma a intervalos de tiempo constantes, se obtienen muestras de iguales volúmenes, o bien de volúmenes diferentes, siendo el volumen dependiente del flujo.

Muestras continuas: La recolección se hace en forma continua y la velocidad de flujo con que se toma puede ser fija o variable dependiendo de si existe o no variación en el caudal del cuerpo de agua que se estudia (también puede ser un vertimiento).

Las muestras periódicas y/o continuas son muy utilizadas en el monitoreo de ríos, vertimientos o procesos en línea para la industria.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Muestras en serie:

- De perfil profundo: muy aplicables en oceanografía cuando el objetivo es conocer la variación vertical de un parámetro, por ejemplo, definir la posición de la capa termohalina, de la piconclina, etc.
- De perfil de área: serie de muestras de agua tomadas a una profundidad en particular, de una masa de agua en diversas locaciones; muy utilizadas para definir distribuciones espaciales por capas.

5.2 Columna de agua

Las estaciones de muestreo pueden estar ubicadas tanto en la zona de orilla, como en aguas profundas. Los sitios costeros sirven en general para detectar alguna influencia de los ambientes terrestres sobre el cuerpo de agua (napas de agua subterránea, precipitaciones, aporte de contaminantes por arrastre o por presencia de descargas), en tanto que las estaciones ubicadas en aguas más profundas entregan información sobre la columna de agua, como presencia de estratificación, indicadores de eutroficación, presencia de contaminantes, etc.

Muestreo de costa:

El muestreo de orilla generalmente consiste en muestras de inmersión tomadas en puntos específicos. Es importante que no existan cambios en la ubicación de la estación de trabajo cuando se trata de muestreos periódicos.

Para evitar la contaminación de las muestras a partir de sedimentos resuspendidos, el muestreador debe tomarla preferiblemente desde un bote o muelle.

Muestreo en aguas profundas



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

El muestreo en aguas profundas debiera considerar la toma de muestras en al menos cuatro profundidades a lo largo de la columna de agua, estableciendo cuatro perfiles como a continuación se indican:

- Perfil 1; a 1 metro por debajo de la superficie
- Perfil 2; a 1 metro por encima del fondo
- Perfil 3; a 1 metro por encima de la pycnoclina
- Perfil 4; a 1 metro por debajo de la pycnoclina (Gibson, 2000)

Si las aguas son más bien someras o no se produce estratificación, es conveniente tomar muestras debajo de la superficie, a media agua y justo por encima del fondo tratando de no perturbar los sedimentos.

Cuando se realizan mediciones in situ de temperatura y salinidad (CTD), éstas deben ser tomadas a intervalos de aproximadamente 1 metro desde el nivel de superficie hasta el fondo, con un intervalo máximo de 5 metros para zonas de gran profundidad. En zonas de alta estratificación, un intervalo más pequeño debiera ser apropiado.

Es de vital importancia para el diseño del muestreo considere las características propias de la masa de agua a muestrear, tomando en cuenta la información histórica disponible que indiquen las épocas de estratificación de la columna de agua en zonas costeras (Figura 2), o si se trata de un estuario, determinar la clase o tipo al cual pertenece.

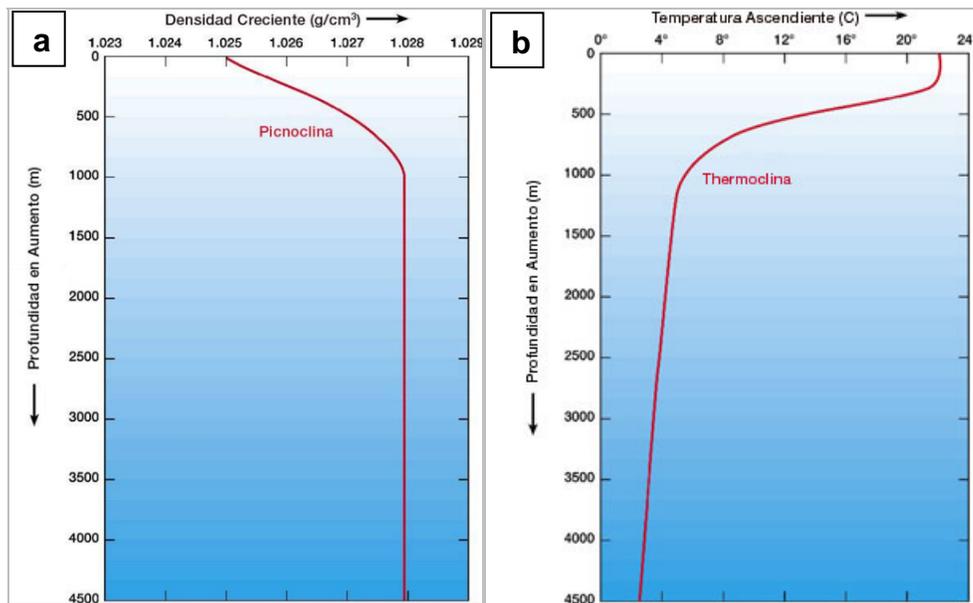


Figura 2. Presencia de estratificación en océanos. a. Pícnoclina; b. Termoclina



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Para el diseño de protocolo de muestreo en estuarios, se recomienda la utilización de la clasificación por salinidad, ya que este elemento constituye el factor que domina los patrones de difusión, dispersión y transporte de materia dentro de los estuarios, en función de los gradientes de salinidad que se producen por mezcla gradual entre el agua de mar y el aporte de agua dulce proveniente de los ríos.

Pritchard (1995) y Cameron (1963), clasifican los estuarios de acuerdo a su estratificación y características de salinidad. Se definen tres tipos principales de estuarios: a. Altamente estratificados o estuarios de cuña salina; b. Parcialmente mezclados; c. Homogéneos o bien mezclados.

- a. Altamente estratificado o de cuña salina: Si se considera un estuario que desemboca en un mar sin mareas, con una fuente de agua dulce en su parte superior, y que no existe fricción, se encuentra una situación en la que el agua dulce, al ser menos densa que el agua salada, fluye hacia el mar sobre la superficie de la capa de agua salada. La velocidad en la capa superior y su espesor disminuyen hacia la boca al ensancharse el estuario. La interface entre el agua dulce y el agua salada (haloclina) debería ser horizontal y debería extenderse hacia la cabeza del estuario. No habría mezcla entre el agua dulce y salada y ningún movimiento en la cuña salina (Figura 3. a.).

- b. Estuarios estratificados: Los estuarios altamente estratificados son similares a los de cuña salina, sin embargo, la capa inferior es muy profunda. Al dominar el flujo del río sobre la marea, las olas que rompen en la interface de las capas producto de la fuerzas de corte, es nuevamente el proceso de mezcla dominante entre el agua dulce y la salada. Cuando la descarga del río es grande, la capa superficial es casi homogénea y el gradiente máximo de



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

salinidad ocurre debajo de la superficie. Existen también estuarios ligeramente estratificados, donde el volumen de agua de río es pequeño respecto del volumen de marea. Esta condición genera un flujo de marea turbulento en toda la columna de agua, como resultado, el agua salina se agita en la capa superior y el agua dulce en la capa inferior. La salinidad, por lo tanto, cambia a lo largo del eje del estuario no solo en la capa superior (como fue el caso del estuario altamente estratificado), sino en ambas capas (Figura 3. b.).

- c. Estuarios bien mezclados o estuarios verticalmente homogéneos: El volumen de río es insignificante comparado con el volumen de marea. La mezcla de marea domina a todo el estuario. Localmente se obtiene una mezcla completa de la columna de agua entre la superficie y el fondo, eliminando toda la estratificación vertical. Como resultado, los perfiles verticales de salinidad muestran una salinidad uniforme pero también un incremento de salinidad de estación a estación conforme se aproxima el final exterior del estuario. (Bustos, 2007) (Figura 3 c.).

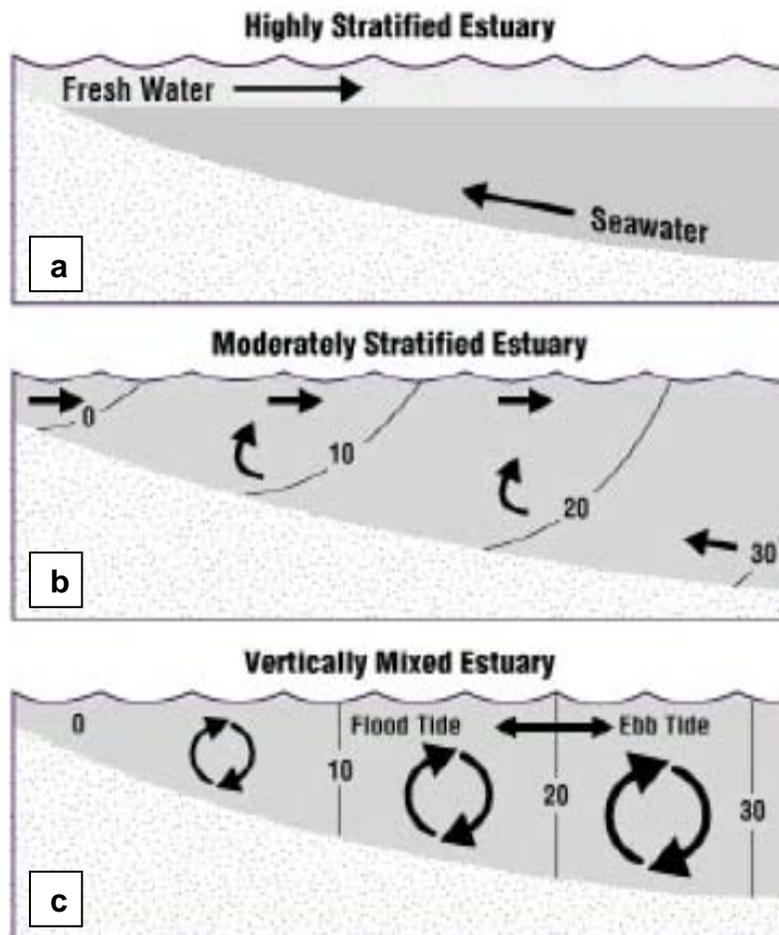


Figura 3. Clasificación de estuarios por salinidad. a. Altamente estratificado; b. Estuarios estratificados; c. Estuarios verticalmente mezclados.

Fuente: Ohrel y Register, 2006



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Muestreo desde botes o lanchas pequeñas: El muestreo en aguas profundas requiere la identificación y ubicación de las estaciones de muestreo mediante coordenadas geográficas (WGS 84-18S).

Una vez ubicada la estación de muestreo, se debe anclar si la profundidad lo permite y esperar a que el bote o lancha se oriente con la proa hacia donde se dirige la corriente o el viento. Si la profundidad no permite el anclado, se debe procurar mantener la ubicación con el motor en funcionamiento, procurando evitar cualquier grado de interferencia de este con la muestra.

- Muestreo desde embarcación: El muestreo desde grandes embarcaciones (considerando toda aquella embarcación provista de un motor de propulsión, guinches para el manejo de muestreadores y al menos un área de trabajo en cubierta) es cercanamente similar al muestreo desde botes. Es usual en los muestreos desde este tipo de embarcaciones el descenso en cada estación de varias botellas simultáneamente para muestrear varias profundidades al mismo tiempo.

5.2.1 Equipos de Muestreo – Columna de agua

Cuando las muestras son superficiales únicamente es necesario extremar la limpieza del material y procurar procedimientos que eviten la contaminación.

En muestras superficiales la recolección se puede hacer manualmente introduciendo la botella colectora bajo la superficie (Figura 4. a-b), procurando siempre hacerlo a la misma profundidad (25 cm).



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Cuando el objetivo es obtener muestras de agua a profundidades determinadas, se emplean botellas colectoras dotadas de mecanismos de cierre para confinar la masa de agua que se encuentra a la profundidad de interés. En estudios oceanográficos, se emplean normalmente botellas Nansen para el análisis de los parámetros fisicoquímicos, pH, salinidad, oxígenos disueltos y nutrientes inorgánicos. Las botellas Van Dorn (Figura 4. c y d) y Niskin (Figura 4. e-f), por tener capacidad de mayor volumen, son ideales para la obtención de muestras en el análisis de pigmentos fotosintéticos y contaminantes (pesticidas, metales pesados, etc.).

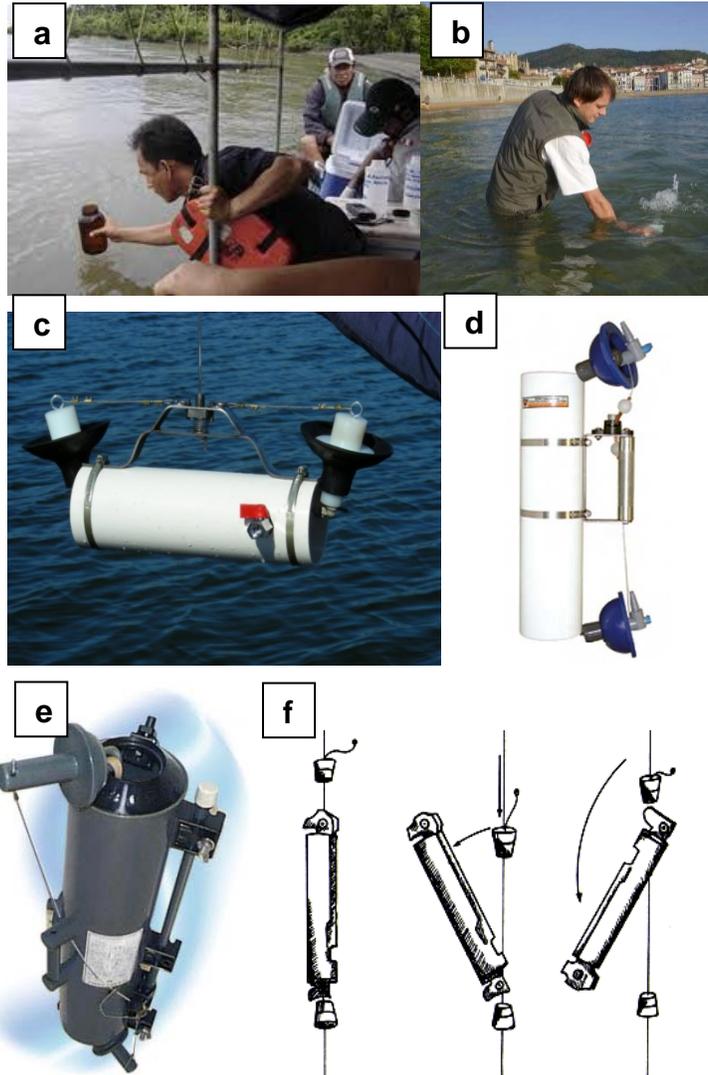


Figura 4. a-b. Muestreo desde superficie; c. Botella Van Dorn horizontal; d. Botella Van Dorn vertical; e - f. Funcionamiento botella Niskin



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

La botella Van Dorn horizontal es adecuada para coleccionar muestras de fondo en cuerpos de agua muy someros, siendo muy apropiada para estudios de estratificación vertical, termoclinas y termohalinas en lagunas costeras, mientras que las de funcionamiento vertical permiten coleccionar muestras a mayores profundidades.

El volumen de muestra de agua a coleccionar depende de los requerimientos del laboratorio con base en la cantidad de parámetros a analizar: Para el análisis de compuestos orgánicos se deben utilizar filtros de fibra de vidrio, aceptándose por convención que el material retenido en el filtro es la fracción particulada o suspendida, mientras que el filtrado constituye la fracción disuelta.

Las mediciones de parámetros físicos (temperatura, salinidad, densidad), se realizan usualmente mediante un CTD (conductímetro, temperatura, densidad) (Figura 5). Mediciones de densidad son importantes para identificar y rastrear los movimientos de cuerpos de agua y para determinar la profundidad en la cual las masas de agua establecen su equilibrio.



Figura 5. CTD, (conductividad, temperatura y densidad)



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

5.3 Sedimentos

El muestreo de sedimentos superficiales para evidenciar la presencia de contaminantes, puede proporcionar antecedentes sobre los impactos tanto en la comunidad del bentos como el potencial de impactos en la salud humana.

Metales y compuestos orgánicos hacen ingreso al cuerpo de agua mediante descargas de ríos, fuentes puntuales y no puntuales de contaminación (como la deposición atmosférica), generalmente se mantienen y se acumulan en los sedimentos.

El monitoreo de contaminantes en el sedimento es una forma de medir la condición del hábitat del bentos ampliamente aceptada y es una poderosa herramienta para evaluar espacial y temporalmente los efectos de alteraciones naturales y antropogénicas.

Los sedimentos representan un potencial sumidero de variados contaminantes. El objetivo del monitoreo permite detectar la existencia de toxicidad y permite describir cambios espaciales y temporales en los contaminantes presentes en el sedimento. Los resultados pueden ser utilizados para monitorear las tasas de cambio desde el inicio de la descarga de contaminantes, evaluar la condición de los hábitats y puede proveer una alerta temprana de impactos potenciales en el ecosistema marino.

Con respecto al sedimento el muestreo debe incorporar sitios dentro de la zona inicial de dilución de descargas de contaminantes, extendiéndose hacia zonas donde la concentración disminuye y más aún hacia zonas que no se han visto afectadas por estos procesos, con el objeto de obtener un completo análisis de la variabilidad espacial.

5.3.1 Equipos de Muestreo – Sedimentos

Es esencial que las muestras de sedimento sean colectadas utilizando técnicas estandarizadas aceptables, ya que los resultados de análisis de laboratorio dependerán de la aceptabilidad de la muestra.

La selección del equipo de muestreo, dependerá en gran medida de los análisis que requerirá la muestra, se debe considerar además la profundidad a la cual será tomada esta, el predominio de corrientes, características del fondo marino, el grado de homogeneidad y representatividad de la muestra que se requiere.

Para lograr un muestreo que no altere mayormente el sedimento se debe:

- Crear una mínima inclinación de penetración del equipo de muestreo
- Sellar una vez tomada la muestra para evitar fugas o pérdidas
- Evitar una excesiva perturbación mientras se retira el muestreador
- Se requiere una penetración profunda, para evitar la perturbación del sedimento.

Varios tipos de dispositivos pueden ser utilizados para la toma de muestra en sedimentos: dragas (Figura 6 d y e) y tubos del tipo corer sampler (Figura 6. a, b y c).

Existen dragas con características de diseño muy variadas que incluyen modalidades de cierre de mordaza activadas mediante resorte o el peso de la misma. La draga para muestreo de sedimentos mayormente utilizada corresponde a la de tipo Eckman (Figura 6 e).

La draga tipo Eckman se utiliza para obtener muestras de sedimentos blandos como arenas finas, fango, limo y lodo. Es ineficiente en aguas profundas con condiciones adversas de corriente.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

La draga del tipo Van ven (Figura 6. d), se utiliza para la toma de sedimentos en estuarios y otros hábitats marinos. Es útil para el muestreo de grava, barro, arcilla y sustratos similares. Esta draga tiene una mordida pareja de alrededor de 0.06, 0.1 y 0.2 m², es capaz de muestrear el sustrato sin perturbar la capa agua-sedimento. Algunos implementos menos elaborados como los tubos corer y el cono siguen siendo muy utilizados por su bajo costo y facilidad de operación. Se utilizan en estudios cuando la información relacionada con el perfil vertical de un sedimento es de interés.

Salvo que la muestra obtenida tenga resistencia mecánica, se debe tener cuidado al retirarla del núcleo, con el fin de preservar su integridad longitudinal.

Los tubos corer pueden ser utilizados a diversas profundidades en sustratos lo suficientemente compactados, aunque tiene un mejor comportamiento en el muestreo de arcilla, limo o arena.

Para muestras superficiales de orilla, la utilización de cucharas plásticas o de acero inoxidable es suficiente. En estudios de metales pesados no se deben utilizar equipos contruidos de metal, deben emplearse cucharas o tubos corer plásticos (por lo general de PVC).

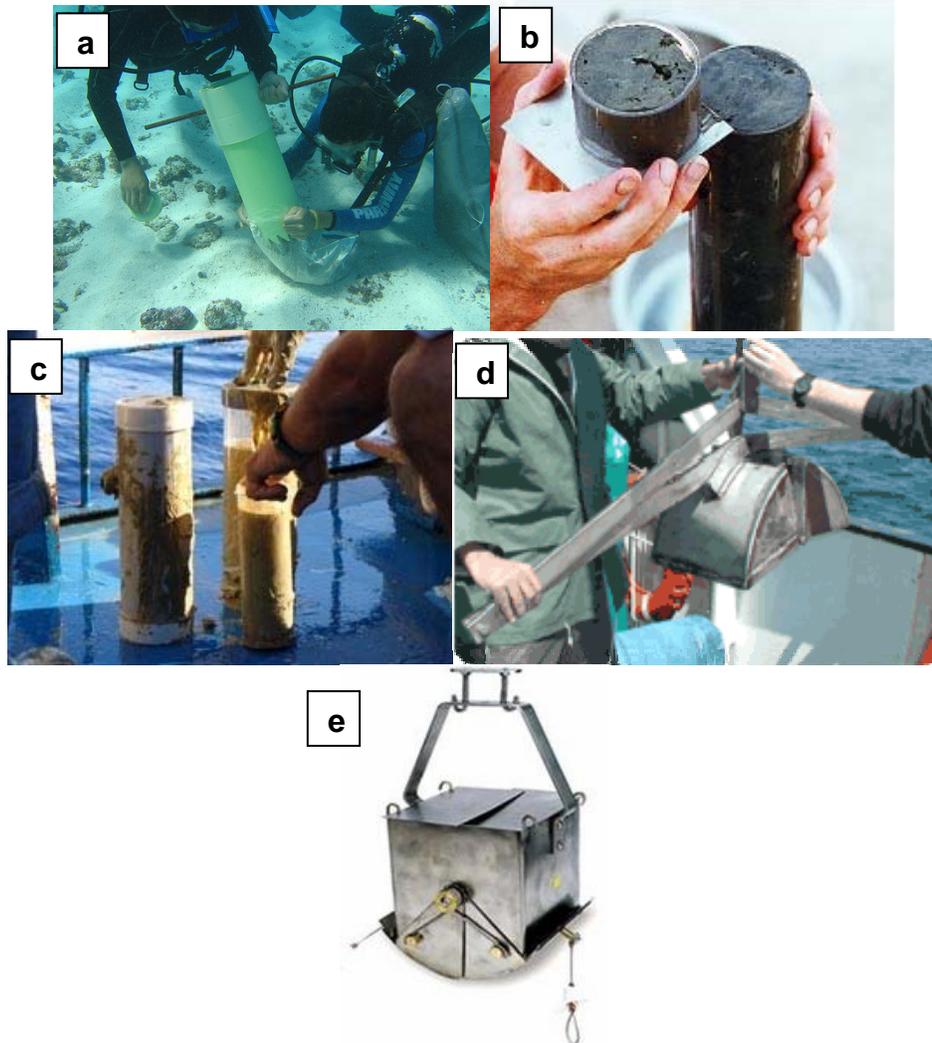


Figura 6. Equipos de muestreo de sedimentos. a. muestreo por medio de box corer; b. box corer con muestra; c. box corer; d. Draga Vanveen; e. Draga Eckman.

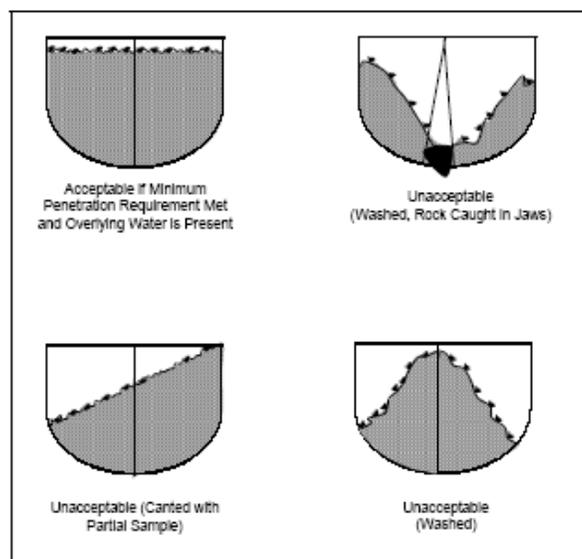


Figura 7. Forma correcta para la toma de muestra de sedimentos mediante draga.

Fuente: U.S EPA, 1994.

5.4 Especies Biológicas

Los principales aspectos del muestreo del bentos son:

- La toma de muestras representativas que cumplan con los requerimientos y objetivos de la planificación general del muestreo.
- La prevención del deterioro y contaminación de las muestras antes de su análisis.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Una amplia variedad de dispositivos pueden ser utilizados para el muestreo de macroinvertebrados bentónicos, los que incluyen: redes de arrastre, dragas, agarra, saca testigos de caja, samplers de succión, y saca testigos de mano (Eleftheriou y Mc Intyre, 2005). Dado que la mayoría de estos dispositivos muestra el bentos de una manera única, la comparabilidad de los datos recolectados a través de diferentes dispositivos puede ser cuestionable.

Las redes de arrastre y dragas en general colectan los organismos en un área variable y relativamente grande. Por el contrario, los demás dispositivos, por lo general colectan organismos en un área fija y relativamente pequeña.

Para el muestreo en aguas más profundas se usan en general dos tipos de dispositivos: las dragas que colectan sedimentos (en ocasiones consiguen arrancar rocas duras del fondo) y organismos de las capas superficiales del sustrato en volúmenes acotados por sus dimensiones y en consecuencia son utilizadas para el estudio cuantitativo de la distribución horizontal de las variables.

Muestreadores de tubo (“core samplers”) que colectan un perfil vertical de los sedimentos y en consecuencia proveen material para la determinación de la distribución vertical de las variables. Las dragas, debido a la facilidad de su uso y a las cantidades relativamente grandes de muestra obtenida, son ideales para el estudio de organismos medianos o grandes y para el análisis de contaminaciones recientes. Los muestreadores de tubo en cambio, son apropiados para organismos pequeños (meiofauna) y para el estudio de las variaciones temporales (históricas) de la contaminación.

El uso de un tipo u otro, queda determinado por los objetivos del proyecto y por las características físicas del lugar a muestrear.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

El grado de replicación de la muestra dependerá en gran medida del objetivo del muestreo. Por lo general es recomendable utilizar más de una muestra que represente a una estación. Sin embargo, las muestras individuales pueden ser aceptables para algunos tipos de investigaciones, tales como estudios preliminares. Para las comparaciones estadísticas que se basan en la varianza de las variables infauna bentónica dentro de las estaciones, se recomiendan cinco réplicas para cada estación, si es posible, y con un mínimo número de réplicas por estación de tres (Swartz, 1978).

Las comunidades bentónicas están constantemente cambiando en el tiempo. Probablemente la mayoría de los patrones temporales comunes en las comunidades bentónicas son los asociados con los cambios estacionales. La variación estacional puede resultar en cambios en las variables ambientales fisicoquímicas, tales como temperatura, luz, salinidad, oxígeno disuelto y alteración del hábitat. En general la influencia de este tipo de variables es mayor en aguas someras (Gray y Elliot, 2009).

Dada las características de la variación estacional en las comunidades bentónicas en general, se recomienda que las comparaciones directas entre las muestras colectadas durante las diferentes estaciones se realicen con la debida precaución, o evitarse por completo. Por lo tanto, los estudios debieran llevarse a cabo durante la misma temporada (de preferencia el mismo mes) cada año.

5.4.1 Equipos de Muestreo – Especies biológicas

Los cuadrados de muestreo son los instrumentos más simples que pueden ser utilizados para efectuar y estandarizar un muestreo. Consisten en marcos por lo general cuadrados (metálicos, plásticos, etc.), cuyas dimensiones dependen del tipo de muestreo a efectuar. (Figura 8 b).

Su uso más frecuente se da en los muestreos biológicos de la zona intermareal, ya que los organismos a muestrear deben ser obtenidos sacándolos manualmente del interior del cuadrado.

Dependiendo del sustrato a muestrear, los organismos son capturados con las manos, o utilizando espátulas y/o cuchillos (sustratos duros), o bien son obtenidos con la ayuda de palas u otras herramientas para excavar (sustratos blandos). Por extensión, los cuadrados de muestreo son también utilizados en muestreos llevados a cabo por buzos autónomos en aguas someras (entre 0 a unos 20-25 m de profundidad) (Figura 8 c y d).

Las dragas (Figura 8 a), consisten esencialmente en un par de cucharas articuladas que al cerrarse (una vez que la draga ha tomado contacto con el fondo) recogen una parte más o menos superficial del sedimento y de los organismos que se hallan sobre y dentro de éste. En algunos modelos (por ejemplo las dragas tipo Ekman), la cara superior de la draga posee aberturas articuladas que permiten al agua fluir durante el descenso del artefacto, reduciendo en consecuencia el disturbio del sedimento que de otra forma ocurriría por la onda de choque frontal que se produce cuando la draga es bajada rápidamente.

La principal ventaja de las dragas es que son fáciles de usar y permiten el muestreo de cantidades relativamente grandes de sedimento y en consecuencia de los organismos asociados. Sus principales desventajas son:



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- a. Los organismos que se hallan en escasa densidad, difícilmente son muestreados;
- b. Parte de los sedimentos finos (y organismos pequeños) pueden ser lavados durante el ascenso del equipo;
- c. La profundidad de penetración en el sedimento es por lo general baja.

Los muestreadores de tubo (core sampler) (Figura 8, f), son capaces de penetrar el sedimento más profundamente que las dragas; en consecuencia pueden proveer una sección de las diferentes capas de sedimento y por lo tanto, información acerca de cómo éste se ha depositado. En general son usados para el muestreo de las características físico-químicas de los sedimentos y en el muestreo de la micro-meiofauna¹⁵, dado que por su escasa superficie de muestreo no son apropiados para el muestreo de organismos bentónicos grandes.

En su forma más simple son tubos de material plástico rígido o metal o PVC de aproximadamente 1 a 5 cm de diámetro, que son introducidos a mano en el sedimento para obtener una muestra de éste.

El uso de buzos (Figura 8 c y d), es prácticamente inevitable en los muestreos de bentos de aguas someras, tanto marinas como de agua dulce. De hecho, el muestreo con buzos tiene, con respecto al uso de equipos controlados desde superficie, marcadas ventajas cuando se trata de superficies rocosas desparejas o muy inclinadas, o cuando se muestrean áreas con bloques rocosos.

¹⁵ La **meiofauna** está compuesta por los pequeños animales que habitan entre los granos de arena y en los fangos. Se trata de pequeños invertebrados, que no superan 1 mm en la mayoría de los casos, y pueden llegar a medir 45 μm

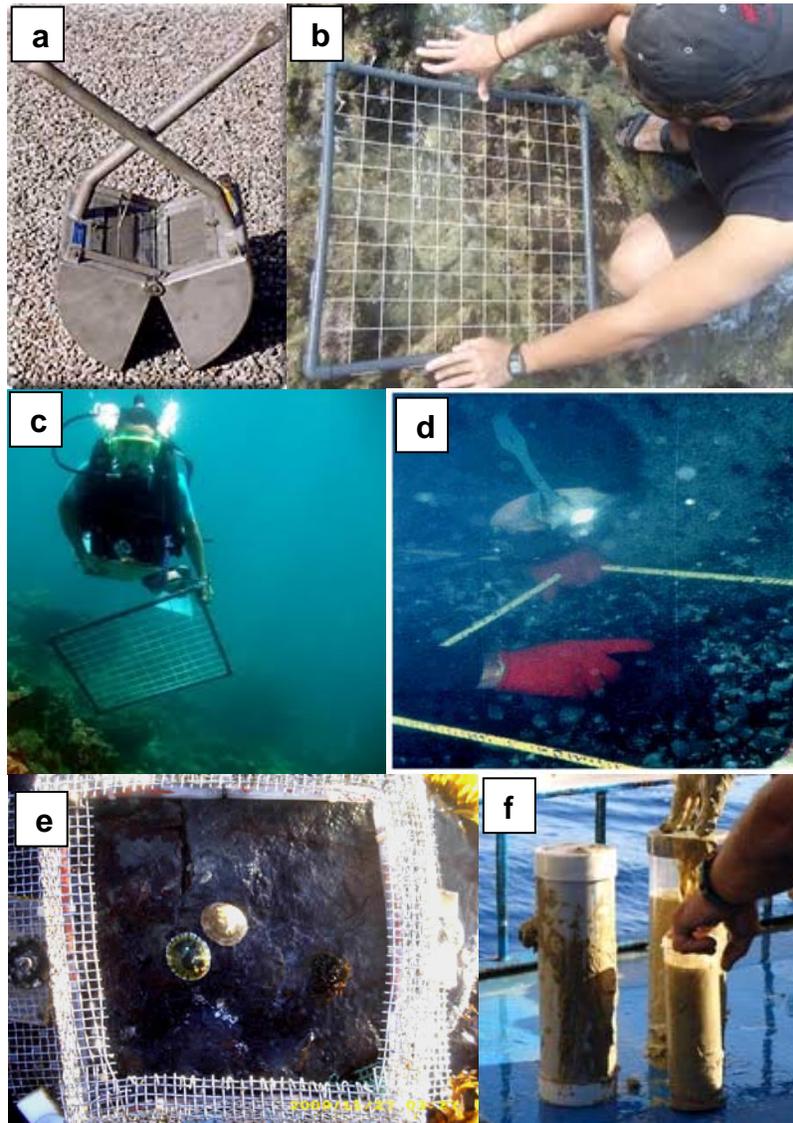


Figura 8. Metodologías de muestros de organismos marinos. a. muestreo del bentos mediante draga; b. muestreo del intermareal mediante recolección a mano; c-d. Grilla en el submareal (mediante buceo) e. Intermareal (recolección manual), para el muestreo de bivalvos; f. uso de corer para el muestreo de meiofauna.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

5.5 Almacenamiento de muestras

La credibilidad de los datos generados por cada laboratorio depende en gran medida de la calidad y estado de las muestras que ingresan al mismo, siendo pertinente tomar todas las precauciones necesarias para evitar su mínimo deterioro a partir del momento de su recolección. Los parámetros de calidad del agua que normalmente se analizan se pueden dividir en los siguientes tres grupos, de acuerdo con su mayor o menor susceptibilidad de alteración.

- Conservativos. (Concentración no varía con el tiempo)
- No conservativos/preservables. (Concentración cambia con el tiempo, pero pueden ser estabilizados al menos por 24 horas)
- No conservativos. (Concentración varía rápidamente con el tiempo y no pueden ser preservados, como temperatura, pH y oxígeno disuelto).

El manejo de las muestras recolectadas en campo debe cumplir con las siguientes precauciones generales para evitar al mínimo su contaminación:

- Las medidas realizadas en campo se deben hacer en una sub-muestra separada, que se descarta luego de la determinación.
- Los recipientes para el envase de muestras, nuevo o usado, deben limpiarse siguiendo un protocolo de lavado establecido, utilizando el mismo recipiente para cada tipo de parámetro.
- Los recipientes de muestras se deben almacenar en ambientes limpios, libres de polvo y suciedad, debiéndose aplicar iguales precauciones durante su transporte del campo al laboratorio.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOSCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Los derivados de petróleo (aceites, gases de escape y combustibles de lanchas y vehículos) son fuentes potenciales de contaminación de las muestras. Es sabido que el humo de cigarrillo y los gases de escape contaminan las muestras con plomo y metales pesados.
- Nunca debe medirse en campo o en el laboratorio la conductividad en una muestra de agua donde se haya medido previamente el pH, debido a que los electrodos de pH difunden KCl y alteran el valor medido. Esto es particularmente válido para muestras de agua dulce con niveles bajos de conductividad.
- No deben exponerse las muestras a la luz solar directa, por lo cual debe procurarse arribar lo más rápido al laboratorio.

En lo posible, es conveniente detectar los errores sistemáticos o al azar generados por una manipulación deficiente de las muestras y/o contaminación de los envases de muestreo, desde la toma hasta su determinación en laboratorio. Para lo anterior, antes de comenzar la recolección de las muestras se selecciona al azar uno de cada 10 frascos limpios para llenar con agua destilada, se preserva de la misma manera que las muestras y se analiza con las mismas. El análisis permitirá detectar cualquier contaminación debida a los recipientes de muestreo utilizados.

La selección y preparación de un recipiente puede ser de gran importancia, más adelante en cada análisis se indicará el tipo de recipiente en el cual se debe recolectar y almacenar la muestra. En la Norma NTC-ISO 5667/2 se da orientación sobre el tema. No obstante, se debe recordar que el recipiente en el cual se almacena la muestra y el tapón no debe:



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Ser causa de contaminación (por ejemplo, los recipientes de vidrio de borosilicato pueden incrementar el contenido de sílice o sodio).
- Absorber o adsorber los constituyentes que se deban determinar (por ejemplo, en un recipiente de polietileno se pueden absorber hidrocarburos; y en la superficie de uno de vidrio se pueden adsorber trazas de metales).
- Reaccionar con ciertos constituyentes de la muestra (por ejemplo, fluoruros que reaccionen con el vidrio).

En el caso de muestras para la determinación de parámetros fisicoquímicos, una precaución sencilla que, sin embargo, no es adecuada en todos los casos*, es *llenar los frascos completamente y taparlos* en tal forma que no haya aire sobre la muestra. Esto limita la interacción con la fase gaseosa y la agitación durante el transporte evitando así, las modificaciones en el contenido de CO₂, y por consiguiente, las variaciones en el pH; los hidrogenocarbonatos no se convierten en carbonatos precipitables; el hierro tiene menos tendencia a ser oxidado, limitando así variaciones de color, etc.

Si las muestras van a ser congeladas, los frascos se deben llenar, pero no completamente¹⁶; el congelamiento (a – 20°C) permite en general un incremento en el período de almacenamiento. No obstante, es necesario controlar la técnica de congelamiento y descongelamiento, para retornar la muestra a su equilibrio inicial; en este caso es muy recomendable usar recipientes plásticos.

¹⁶ No se recomienda llenar completamente los frascos cuando las muestras van a ser sometidas a congelamiento, porque la dilatación puede provocar la ruptura del envase.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

5.6 Preservación de muestras

Las técnicas analíticas son válidas, es decir, cumplen con los requisitos de precisión y exactitud siempre y cuando sean aplicadas a muestras recientemente tomadas. En muchos casos los análisis no pueden ser realizados inmediatamente en el sitio de procedencia y se hace necesario un procedimiento de preservación de las mismas que garantice la conservación de los analitos durante el transporte al laboratorio y el tiempo necesario para ejecutar el análisis. Una buena técnica de preservación debe retardar los cambios químicos y biológicos que sufre la muestra una vez ha sido removida de su fuente.

Los diferentes procedimientos son establecidos teniendo en cuenta la naturaleza de la muestra, la estabilidad de los analitos, la reactividad de estos y la matriz donde se encuentran. Las funciones de los métodos de preservación son retardar la acción biológica y la hidrólisis de los compuestos químicos y sus complejos, reducir la volatilidad de los constituyentes y los efectos

de absorción y retardar la oxidación y reducción de los componentes de interés. En general, los métodos existentes para la preservación se limitan a un control de pH, la adición de sustancias químicas, la refrigeración y la congelación de las muestras. Para la conservación de muestras líquidas se han propuesto diversos componentes químicos, a concentraciones variadas equitativamente, los más utilizados son:

- Ácidos
- Soluciones básicas
- Biocidas
- Reacciones particulares (fijación)



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

En la tabla 2 se presentan las recomendaciones para preservación de muestras según el tipo de constituyente y parámetro a evaluar. Otro punto indirecto de importancia es minimizar la alteración que sufre la muestra una vez es tomada, por ello el contenedor debe evitar la contaminación, ayudar a la preservación de la muestra y protegerla de la acción de la luz.

En la Norma NTC-ISO 5667/3, Edición 1995 y el *Standard Methods*, 20th, se pueden encontrar más recomendaciones con respecto a la preservación y almacenamiento de muestras líquidas.

Tabla 2. Recomendaciones para la preservación y almacenamiento de muestras líquidas.

Fuente: U.S EPA, 2001

Parameter	Minimum Sample Size (ml) ^a	Container	Preservation Technique	Holding Time
Alkalinity	100	Glass or Polyethylene	Refrigerate, 4°C	14 Days
Total Hardness	100	Glass or Polyethylene	Refrigerate, 4°C HNO ₃ to pH<2	6 Months
Total Phosphorous	50	Glass or Polyethylene	Refrigerate, 4°C H ₂ SO ₄ to pH<2	28 Days
Orthophosphate	50	Glass or Polyethylene	Refrigerate, 4°C ^g Filter on Site	48 Hours
pH	25	Glass or Polyethylene	None	Analyze Immediately ^b
Salinity	200	Glass or Polyethylene	None	28 Days
Turbidity	100	Glass or Polyethylene	Refrigerate, 4°C	48 Hours
Total Suspended Solids	1,000 to 4,000 ^d	Glass or Polyethylene	Refrigerate, 4°C	7 Days
Dissolved Oxygen Winkler	125	Glass Bottle with Glass Top	Fix with MnCl ₂ and Alk. Iod. (2 ml ea.)	8 Hours (store in the dark)
Dissolved Oxygen Probe	125	Glass Bottle with Glass Top	None	Analyze Immediately ^b
Ammonia - N	100	Glass or Polyethylene	Refrigerate, 4°C H ₂ SO ₄ to pH < 2 ^g	28 Days
Nitrite - N	100	Glass or Polyethylene	Refrigerate, 4°C ^g	48 Hours
Nitrate - N	100	Glass or Polyethylene	Refrigerate, 4°C ^g	48 Hours
Silica	100	Polyethylene	Refrigerate, 4°C ^g	28 Days
Chlorophyll a	25 to 1,000 ^d	Glass or Polyethylene (Dark)	Store filters frozen (-20°C) in the dark ^f	28 Days ^f

Continuación **Tabla 2**

Volatile Organics	80	Glass -2 40 ml vials No Headspace	Refrigerate, 4°C HCl to pH<2	14 Days
Semivolatile Organics	1,000 to 2,000	Glass	Refrigerate, 4°C	7 Days ^a
Total Mercury and Diss. Mercury	500	Teflon™ or Glass with Teflon™ Cap	Refrigerate, 4°C, HNO ₃ to pH<2 ^{g,h}	28 Days
Total Metals and Diss. Metals	1,000	Polyethylene or Teflon™	Refrigerate, 4°C, HNO ₃ to pH<2 ^g	6 Months
Microbiology	500	HDPE (Autoclaved)	Refrigerate, 4°C	24 Hours

- a. Minimum field sample size for one laboratory analysis. If additional QC analyses are required, the field sample size should be adjusted accordingly.
- b. Immediately means as soon as possible after the sample is collected, generally within 15 minutes. These parameters should, ideally, be measured in the field.
- c. After filtration.
- d. The volumes specified are only estimates; the actual volume collected and filtered depends on concentration and analytical methodology used and may be larger than those presented in the Table.
- e. Holding time to extraction. After extraction, holding time is 40 days to analysis.
- f. Samples collected for the analysis of chlorophyll *a* must be kept cold until sample filtration. Filtration should occur as soon as possible after sampling. The filter may be immersed in 90 percent acetone solution and frozen which may significantly extend the holding time, however, this method is not approved for use on projects that come under regulatory scrutiny. Prolonged exposure of the filter to air can result in a loss of chlorophyll *a*.
- g. Samples for analysis of total mercury and total metals should be preserved within 24 hours of sample collection, preferably in the field immediately following sample collection. Samples for analysis of dissolved mercury and dissolved metals must be preserved after filtration. Filtration and/or preservation of metals samples and the nutrients orthophosphate, ammonia nitrogen, nitrate, nitrite, and silica must occur within 24 hours of sample collection, preferably in the field immediately following sample collection. Holding times for nutrient samples may be extended up to 60 days by freezing but this methodology may not be allowed if samples are collected under certain regulatory programs.
- h. Samples collected for analysis of very low levels of mercury or for mercury speciation should be preserved with HCl rather than HNO₃.

Cuando las muestras son de sedimentos, la mejor forma de almacenar y preservar la muestra es secándola; para esto el mejor procedimiento es la liofilización (secado a bajas temperaturas), y el almacenamiento en un medio exento de humedad.

Si el análisis inmediato no es posible, y tampoco se cuenta con un equipo liofilizador, es conveniente secarla en estufa a 40 °C hasta que la muestra esté libre de humedad.

Posteriormente se almacena en bolsas plásticas, si el análisis es de metales pesados; o en papel aluminio, si se buscan residuos de pesticidas, asegurándose de mantenerlas en un desecador.

Cuando se quieren determinar en los sedimentos parámetros como materia orgánica, nitrógeno total o fósforo total, el congelamiento es suficiente.

Es aconsejable realizar una determinación simultánea de humedad para expresar los resultados en base seca.

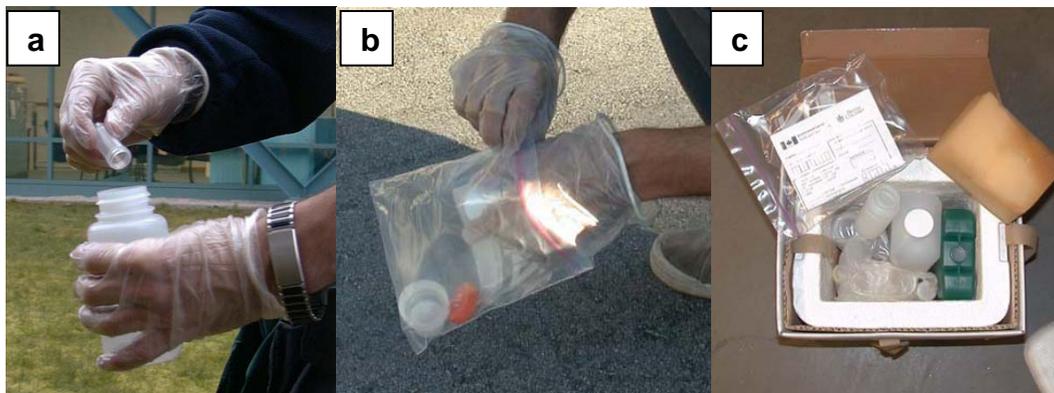


Figura 9. a. Preservación de la muestra; b. Etiquetado y envasado; c. Transporte de las muestras.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

El recipiente de la muestra puede afectar a la composición de ésta, absorbiendo algunos de sus constituyentes; por ejemplo los recipientes de cristal tienden a absorber fosfatos.

Una gran variedad de materiales han sido usados y se ha estudiado su tendencia a contaminar las muestras.

En general, los sedimentos y el agua con múltiples o desconocidos tipos de compuestos químicos deberían conservarse en contenedores hechos de HDPE (High Density Poli-Ethylene) o PTFE (politetrafluoretileno) o teflón, ya que estos materiales son menos probables a provocar interferencias y son mucho menos frágiles que el cristal.

Los metales pueden estar presentes en concentraciones traza en ambas superficies de cristales y plásticos, mientras que los compuestos orgánicos se encuentran con más frecuencia en contenedores de plástico. Para metales, los contenedores preferidos son de polímeros fluoro carbonados, PTFE (Teflón) o FEP (Hexa Fluoro Propileno), así como también HDPE. El cristal no es el más favorable porque puede contener altas concentraciones de metales traza y existe el potencial de adsorción.

Tabla 3. Recomendaciones sobre contenedores, tiempos de duración de las muestras y condiciones de preservación para los análisis de sedimentos más comunes.

Fuente: USEPA, 2001

Parameter	Minimum Sample Size (g) ^a (wet wt.)	Container	Preservation Technique	Holding Time
Particle Size	100 to 150 ^b	Glass or Polyethylene	Refrigerate, 4°C	6 Months
Total Solids	50	Glass or Polyethylene	Freeze, -18°C Refrigerate, 4°C	6 Months 14 Days
Total Volatile Solids	50	Glass or Polyethylene	Freeze, -18°C Refrigerate, 4°C	6 Months 14 Days
Total Organic Carbon	25	Glass or Polyethylene	Freeze, -18°C Refrigerate, 4°C	6 Months 14 Days
Oil and Grease	100	Glass	Freeze, -18°C Refrigerate, 4°C	6 Months 28 Days
Total Sulfides	50 (a 250 ml sample for 5 ml Zn Acetate)	Glass or Polyethylene	Refrigerate, 4°C (2 N Zn Acetate - 5 ml)	7 Days
Acid Volatile Sulfides	50	Glass (no headspace protect from O ₂)	Refrigerate, 4°C	14 Days
Total Nitrogen	25	Glass or Polyethylene	Refrigerate, 4°C	28 Days
Biochemical Oxygen Demand	50	Glass or Polyethylene	Refrigerate, 4°C	7 Days
Chemical Oxygen Demand	50	Glass or Polyethylene	Refrigerate, 4°C	7 Days
Volatile Organics	50	Glass (no headspace)	Refrigerate, 4°C	14 Days
Semivolatile Organics	100	Glass	Freeze, -18°C Refrigerate, 4°C	1 Year ^c 14 Days ^c
Organotins	100	Glass	Freeze, -18°C Refrigerate, 4°C	1 Year ^c 14 Days ^c
Methyl Mercury	100	Teflon™ or Glass	Freeze, -18°C	28 Days
Mercury	50	Polyethylene, Glass (LDPE) or Teflon™	Freeze, -18°C Refrigerate, 4°C	28 Days ^d 28 Days
Metals	50	Polyethylene (LDPE)	Freeze, -18°C Refrigerate, 4°C	2 Years 6 Months
Microbiology	100	HDPE (Autoclaved)	Refrigerate, 4°C	24 Hours



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Continuación **Tabla 3**

Bioassay	7 Liters	Glass or Polyethylene	Refrigerate Protect from light	2 Weeks
----------	----------	-----------------------	-----------------------------------	---------

Notes:

- a. Minimum field sample size for one laboratory analysis. If additional QC analyses are required, the field sample size should be adjusted accordingly.
- b. Sandier sediments require larger sample sizes than do muddier sediments.
- c. Holding time to extraction. After extraction, holding time is 40 days to analysis.
- d. A number of unpublished studies have demonstrated that freezing sediment samples may extend the holding time for mercury analysis up to 6 months.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

5.7 Control de Calidad Q/C

Muestreo

El objetivo de la investigación de la calidad del agua no es otro que proporcionar datos para, en primer lugar, valorar si la contaminación del cuerpo de agua en estudio supone o puede suponer riesgo para la salud humana o para el funcionamiento de los ecosistemas y, en segundo lugar, tomar decisiones acerca de las medidas de recuperación cuya adopción se considere necesaria en el emplazamiento.

Es imprescindible en consecuencia que los resultados de la investigación sean fiables ya que, de las decisiones adoptadas en base a ellos pueden derivarse consecuencias económicas y ambientales de gran trascendencia.

La toma de muestras ambientales para su análisis es una cuestión compleja cuyo grado de variación es tan grande como las numerosas sustancias y lugares en los que se lleva a cabo. La operación de toma de muestras de agua, sedimentos o muestras biológicas, no sólo implica obtener una fracción representativa del lugar a analizar, sino que la misma debe ser manipulada de forma que no haya pérdida de información.

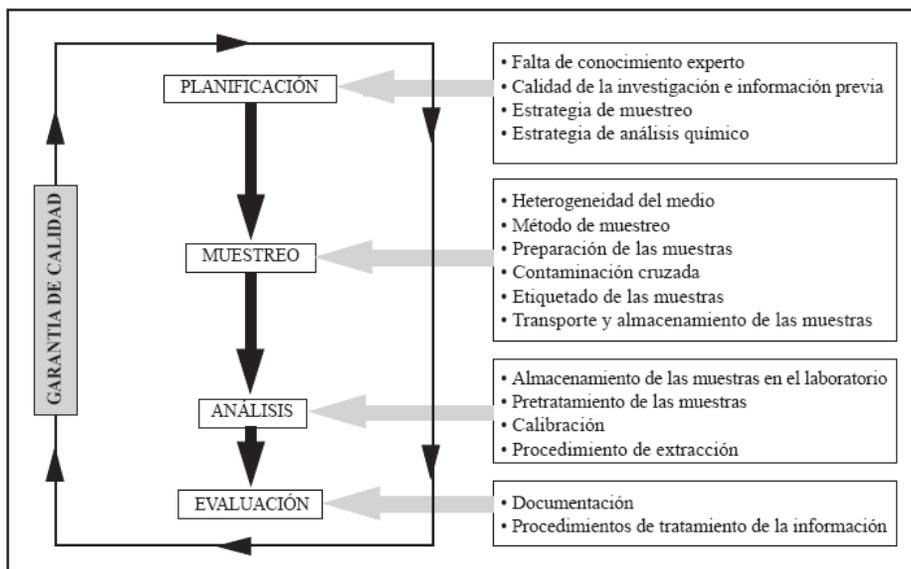


Figura 10. Factores que afectan la calidad de los datos obtenidos en diferentes fases de investigación de contaminación

Fuente: U.S EPA, 2002

Dado que raras veces se conoce el valor real de la concentración de la sustancia investigada en la muestra a analizar, todo el procedimiento de muestreo debe de ser comprobado con el fin de determinar cualquier fuente de error en el mismo. Pese a que el empleo de métodos estadísticos permite evaluar el grado de error, su disminución precisa de medidas específicas de control.

Un programa de control de calidad tiene como objetivo determinar las medidas de control necesarias para minimizar los errores de los resultados finales.

Para conseguirlo, todos los aspectos del programa de muestreo deben ser planeados con detalle, siendo necesario documentar todas las etapas del mismo.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Los registros del proceso de toma de muestras deben establecer claramente los pasos realizados, quién los realizó y las circunstancias en las que se llevaron a cabo. De esta forma, la calidad del proceso puede ser evaluada a partir de la documentación generada.

Dentro de los objetivos de un programa de Control de Calidad del proceso de muestreo, se pueden establecer los siguientes elementos:

- Dar cuenta detallada de las razones en las que se basan las decisiones acerca de la elección del número de puntos, su situación y el momento y periodicidad del muestreo.
- Asegurar la integridad de las muestras, o de los analitos, durante el proceso de muestreo y transporte
- Garantizar la existencia de una documentación completa de todos los pasos llevados a cabo. Ello permite comprobar el cumplimiento de los protocolos establecidos, las posibles desviaciones y la justificación de las mismas. Es importante que los registros de las sucesivas etapas mantengan una coherencia entre sí.

Las principales fuentes de error en el proceso de obtención de la muestra se pueden agrupar dentro de cuatro etapas:

- a. Proceso de toma de muestra;
- b. Transporte;
- c. Factor Humano y
- d. Documentación.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- a. Proceso de toma de muestra: Abarca todo lo relacionado con el proceso de obtención de la muestra en sí. Los aspectos más relevantes a controlar son los siguientes:

Actividades previas al trabajo de campo, como la comprobación y calibrado (o ajuste) de equipos, limpieza y embalaje de los envases, etc.

Origen de la muestra. La determinación del lugar, período de toma, y demás condiciones de muestreo se realizará de acuerdo con el protocolo establecido, y basándose en las hipótesis de trabajo del proyecto a realizar.

Metodología de muestreo. Las técnicas y el equipamiento de toma de muestras deben ajustarse, tanto a los objetivos del muestreo, como a las características del cuerpo de agua a estudiar. Las desviaciones en este aspecto pueden hacer que la muestra sea inútil para el fin previsto.

Análisis realizados en el campo. En el caso de parámetros determinados *in situ* las condiciones de trabajo hacen que las desviaciones del protocolo puedan originar amplios errores. En ocasiones resulta imprescindible registrar datos auxiliares como temperatura, condiciones meteorológicas, etc. de gran importancia en la interpretación final de los datos.

Conservación de la muestra. El lapso de tiempo debido al traslado de la muestra hasta el laboratorio exige, en numerosas ocasiones, que se garantice la conservación de la muestra mediante el establecimiento de un ambiente adecuado (aditivos químicos, baja temperatura, oscuridad, etc.).



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- b. Transporte: El proceso de traslado de la muestra desde el terreno hasta el laboratorio de análisis debe garantizar, no solo la integridad de la muestra, sino también los mecanismos de control. Para ello es preciso elaborar protocolos acerca de las características de los recipientes de transporte, la forma de identificación de los mismos y las condiciones de transporte.
- c. Factor Humano: La falta de preparación o los descuidos debidos a la inexperiencia o la desidia pueden dar lugar a una pérdida irreversible de información. Un programa de formación adecuado, junto al estricto seguimiento de los protocolos permite paliar estos efectos.
- d. Documentación: Es imprescindible que, en cualquier momento, se pueda reconstruir la historia de las muestras analizadas. Por ello, los protocolos de todas las operaciones realizadas deben especificar claramente la información de la misma que debe ser registrada, así como la forma de hacerlo. De esta manera, cualquier anomalía podrá ser rastreada hasta su origen. Otro aspecto importante de la documentación es su papel como garante de la identidad de la muestra y su conservación, especialmente en lo referente a la cadena de custodia.

Existen ciertas precauciones que deben tomarse en cuenta para el proceso de toma de muestra y que deben ser incluidas en el programa de control de calidad

- El material necesario para la operación debe ser limpiado y revisado cuidadosamente antes de la salida. Los equipos empleados para la medida de parámetros en campo deberán de ser previamente revisados en laboratorio, al igual que los patrones que se emplearán en el calibrado o ajuste de campo. Merecen especial atención los recipientes en los que se



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

guardará la muestra (agua, sedimentos o biológicas) recogida cuya limpieza deber ser verificada.

- La localización del punto de muestreo debe ser registrada, tomando referencias visuales, de forma inequívoca. Debe ser lo suficientemente detallada como para que sea posible tomar otra muestra en el mismo punto en caso de que fuera necesario.
- Las muestras (agua, sedimentos o biológicas) deben ser extraídas de la forma adecuada, siguiendo rigurosamente el protocolo de muestreo, tanto en los aspectos referentes a la toma en sí, como en lo referente al lavado del material. Si es factible, el analista deberá supervisar el proceso.
- Los criterios de eliminación de materiales extraños (ramas, piedras, etc.) deberán ser claros y decididos con antelación.
- Cualquier operación que se realice sobre la muestra deberá ser rigurosamente documentada, siguiendo los protocolos. La realización de análisis *in situ* también se llevará a cabo siguiendo rigurosamente los protocolos correspondientes.
- Los recipientes que contienen las muestras deben ser etiquetados con claridad, de forma indeleble, con el código de identificación de la muestra, la fecha y el punto de muestreo. Deben evitarse las notaciones difíciles de descifrar, o que puedan llevar a confusión.
- Las muestras (agua, sedimentos o biológicas) no son inertes, por lo que la demora hasta el momento del análisis debe ser reducida al mínimo. Los analitos más sensibles deberán ser preservados de acuerdo a los protocolos de conservación de muestras.
- Debe comprobarse que todos los materiales utilizados en la toma de muestras no producirán interferencias en el análisis de la misma. Para ello es preciso emplear blancos de control.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- La información asociada a cada muestra debe ser registrada en el campo.

Con respecto a el transporte

- En las muestras que precisan tratamiento especial (refrigeración, aditivos, etc.) se garantizará la continuidad del tratamiento durante todo el período que dura el transporte.
- Los envases con las muestras individuales serán introducidos en recipientes mayores de forma que se impida cualquier pérdida, contaminación o alteración durante el transporte.
- Los recipientes en los que se lleva a cabo el transporte deben ser resistentes. Se recomienda que sean de madera o metal. Si van a ser enviados por vía comercial, se tendrá en cuenta las posibles limitaciones por peso, dimensiones y seguridad.
- Dentro del recipiente, las muestras irán empaquetadas con un relleno aislante que las inmovilice.
- Las muestras mantendrán la misma orientación en la que fueron tomadas.
- Los recipientes en los que se realiza el traslado deberán estar clara y visiblemente identificados, de forma indeleble.

Laboratorio

El programa de Control de Calidad sin duda debe extenderse a las prácticas de laboratorio para los análisis. Un programa de Control de Calidad en un laboratorio de análisis químico ha de detallarse para cada una de las determinaciones que dicho laboratorio quiera contemplar o definir como *sujetas a control de calidad* y ha de incluir todas las acciones referentes a la manipulación y determinación de las



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

muestras sujetas a análisis, desde su entrada al laboratorio hasta la entrega final de los resultados, incluyendo una previsión sobre el destino final de las muestras analizadas así como de los residuos generados en el proceso analítico.

Los elementos básicos a considerar en el programa de control son los siguientes:

- El desarrollo y la estricta adherencia a los principios de «Buenas Prácticas de Laboratorio»
- El uso congruente y continuado de «Procedimientos Estándar de Operación»
- El establecimiento y adherencia a protocolos cuidadosamente diseñados para determinaciones específicas
- El uso congruente y continuado de personal cualificado
- El uso de un equipamiento fiable y en buen estado de mantenimiento
- El uso de procedimientos de calibración y estándares adecuados
- La supervisión estricta de todas las operaciones por parte de personal altamente cualificado pero no directamente implicado en las operaciones que supervisa

La selección de los métodos analíticos más adecuados es uno de los factores más importantes que influyen en la calidad de los resultados obtenidos.

Además de las obvias limitaciones que pueden surgir por la falta de disponibilidad del equipamiento adecuado, de la cantidad de muestra disponible, de personal adecuado, de tiempo y de recursos, existen otros factores que afectan el coste y la calidad de los resultados. Estos factores, que es necesario contemplar en la etapa de planificación del control de calidad, se pueden resumir en los siguientes:



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- El nivel de confianza requerido en lo relativo a la identificación de los analitos
- El nivel de concentración de los analitos que se van a determinar
- El grado de confianza que se necesita obtener en el resultado
- El grado necesario de validación del método que se va a emplear
- El grado de aseguramiento de la calidad del resultado analítico



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

6. PROTOCOLOS DE MUESTREO

6.1 Columna de agua

i Consideraciones del muestreo

El diseño para el muestreo de la columna de agua debe considerar no solamente un muestreo horizontal, sino también un muestreo vertical y el tiempo requerido para la toma de la muestra. Esto debido a que la mayoría de los análisis químicos se llevan a cabo en muestras discretas que debieran considerar muestras a distintas profundidades.

Antes de la toma de la muestra se debe verificar:

- La utilización de guantes de látex si es necesario
- Los envases de terreno (botellas, frascos de vidrio, etc.) deben ser lavados, con un cepillo y detergentes libres de fosfato.
- Enjuagar 3 veces cada envase
- Enjuagar con 10 % de ácido clorhídrico (En caso de que los recipientes a utilizar sean para análisis de nitrógeno y fósforo)
- Enjuagar 3 veces con agua de ionizada.

ii Toma de muestra

Desde superficie: Para la toma de muestra desde la superficie, suele utilizarse botellas con tapas roscas. Se deben seguir los siguientes pasos para la toma de la muestra.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Utilizar un marcador indeleble para etiquetar la botella con el número de la estación, la fecha y la hora de toma de la muestra.
- Destapar la botella inmediatamente antes de la toma de la muestra, evitar tocar el interior de la botella los bordes de la boca, o la tapa. Si accidentalmente se llegara a suceder lo señalado, se debe utilizar otro recipiente.

Toma de muestra por vadeo:

- Se debe procurar de no perturbar los sedimentos, evitando tomar una muestra de agua que presente altos sedimentos en suspensión.
- Mantener la boca de la botella en contra de la corriente o marea (si esta puede ser detectada).
- Colectar la muestra de agua en contra de la corriente frente a uno. (Figura 11).
- Se puede mantener la botella mediante un extensor para muestrear a una mayor profundidad.

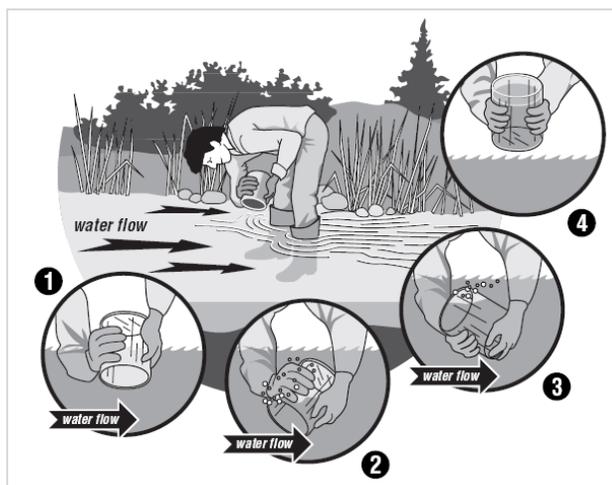


Figura 11. Toma de muestra de agua por vadeo.

Fuente: USEPA, 1997

Toma de muestra desde bote:

- Tomar la muestra desde un lado de la embarcación.
- Sostener la botella desde su base y hundirla (abriéndola hacia abajo), bajo la superficie del agua.
- Si se utiliza una extensión, se debe remover la tapa, poner la botella boca abajo y sumergirla en el agua, en contra de la corriente.
- Colectar la muestra a una profundidad de 20 a 30 centímetros desde la superficie.
- Una vez estando la botella en el agua, poner la botella por debajo del agua y alejado del cuerpo, y en contra de la dirección de la corriente o de la marea.
- Dejar aproximadamente un espacio de alrededor de 2 centímetros en la botella (exceptuando para análisis de oxígeno disuelto y demanda bioquímica



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

de oxígeno), de manera que permita que la botella pueda ser sacudida para su mezcla antes del análisis.

- Añadir los preservantes requeridos para cada análisis. Etiquetar cada botella con número de estación, fecha y hora
- Llenar las fichas de terreno con la información de estación, fecha y hora correspondiente a la muestra, además de los parámetros fisicoquímicos requeridos.
- Si las muestras serán analizadas en laboratorio, éstas deben ser mantenidas en frío (4°C) para su transporte hasta el laboratorio.

Muestreo en Profundidad: Para realizar mediciones y toma de muestra en profundidad, existen diversos tipos de muestreadores diseñados para colectar muestras de agua a profundidades específicas a través de la columna de agua.

Los muestreadores más comúnmente utilizados, corresponden a las botellas Van Dorn y Niskin. Ambos muestreadores, consisten de un cilindro abierto con tapones en ambas aberturas. Presenta una línea calibrada donde se sujeta el instrumento que permite llevarlo a la profundidad deseada para la colecta de la muestra.

- Amarrar la botella a la soga con la que será descendida (soga con marcas).
- Abrir la botella Van Dorn tirando de los cierres de goma de los extremos. No tocar las superficies internas de la botella o de los cierres (particularmente si parte de la muestra va a ser utilizada en bacteriología).
- Armar el mecanismo de disparo de acuerdo a instrucciones del fabricante.
- Bajar la botella a la profundidad deseada, asegurarse que el extremo de la soga esté atado al bote.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Si la botella no es de cierre “automático” (por contacto de un disparador con el fondo), entonces colocar el mensajero en la soga y enviarlo para que suelte el mecanismo de disparo y la botella se cierre.
- Recuperar la botella.
- Abrir la válvula de drenaje y dejar que fluya algo del agua contenida. De esta manera se reduce la posibilidad de que muestras anteriores contaminen la muestra actual.
- Utilizar el agua contenida en la botella para las mediciones de campo y para el muestreo de parámetros físico-químicos.
- Para muestreos de parámetros físico-químicos, tomar una o más botellas para almacenamiento de muestras y lavarlas tres veces (si éstas no han sido pre lavadas) antes de coleccionar la muestra. Transferir el agua desde la botella Van Dorn a una botella de muestreo, usando la válvula de drenaje. Procurar no tocar el extremo de la válvula de drenaje, el interior del tapón de la botella ni el agua que sale por la válvula.
- Tapar la botella, completar la etiqueta externa, rotular en forma abreviada y guardar en heladera con ice-pack en cantidad suficiente (relación volumen de ice-pack a volumen de muestras 2:1 en verano y 1:1 en invierno). Proceder con la muestra siguiente.
- La filtración y/o preservación de las muestras que lo requieran, debe ser realizada cuando se retorne a la costa.

Cada vez que sea posible, las muestras deben ser coleccionadas en el medio de la corriente en lugar de la orilla. Las muestras tomadas en el medio de la corriente reducen las probabilidades de contaminación (efectos de orilla, remolinos, concentraciones debidas al viento en aguas de baja velocidad, etc.). A veces es



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

posible llegar al centro de la corriente por vadeo, en otras ocasiones a través de puentes o bien mediante el uso de botes.

6.2 Sedimentos

Cuando el estudio se centra en los sedimentos más finos, se debe tener cuidado durante la salida del muestreador a la superficie en no perder los finos, porque son esas partículas las más ricas en trazas de contaminantes.

Muestrear la capa superficial provee información de la distribución horizontal de los parámetros o propiedades de interés por los materiales depositados más recientemente. La información obtenida a partir de los análisis de sedimentos superficiales puede utilizarse, por ejemplo, para mapear la distribución de un contaminante químico en sedimentos a través de un área específica de agua. En cambio, una columna de sedimentos, incluidos la capa superficial de sedimentos y los sedimentos de debajo esta capa, se recoge para el estudio de los cambios históricos en parámetros de interés y para caracterizar la calidad del sedimento en la profundidad.

Cuando las formas químicas de los contaminantes y sus asociaciones con las fases del sedimento son interés de estudio, es necesario asegurar que el estado redox del sedimento no se vea alterado, porque la oxidación (o reducción) provocará cambios irreversibles. Los sedimentos se oxigenan en contacto con el aire, por lo que las muestras deben ser tapadas inmediatamente y almacenadas.

La oxidación se puede minimizar si las muestras se enfrían o congelan.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Muestreo con Draga:

- Ubicar la estación de muestreo (latitud y longitud con GPS y su profundidad).
- Preparar la draga en posición abierta y amarrada con una soga al bote. Descender el equipo con cuidado por uno de los costados. De ser necesario, enviar un mensajero para el cierre de la draga. En embarcaciones mayores esta parte del protocolo cambia por el uso de guinches.
- La draga debe ser bajada lentamente hasta entrar en contacto con los sedimentos
- Recuperar la draga. Si esta llegara abierta a la superficie, descartar la muestra y tomarla nuevamente.
- Una vez la draga en cubierta, abrir la tapa de muestreo superior y tomar con la ayuda de una pala o espátula una o más muestras del sedimento colectado, preferentemente en la parte central de la muestra (hasta unos 10 cm de profundidad). Extruir por capas de ser necesario y guardar estas muestras debidamente identificadas. Enfriar o fijar.
- Lavar cuidadosamente la draga con agua a presión y dejarla dispuesta para la siguiente muestra.
- Detallar características de la muestra: presencia de estructuras biológicas (conchas, macrófitas, etc.); presencia de residuos; olor (sulfuros, metano, etc.); Profundidad de penetración; color; textura.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Muestreo por medio de Core:

- Ubicar la estación de muestreo (latitud y longitud con GPS y su profundidad).
- Posicionar el core de manera inclinada en el sedimento
- hundirlo hasta obtener suficiente muestra (10 – 15 cm)
- Extraer el core cuidadosamente, evitando la pérdida de muestra
- Si es posible mantener la muestra en corer hasta llegar al laboratorio, o vaciar las muestras a recipientes adecuados y manteniendo sus condiciones por medio de métodos de preservación.

Existen criterios de aceptabilidad para la toma de muestras de sedimentos, que nos permiten disminuir la variabilidad y los errores al realizar los análisis.

Tabla 4. Criterios de aceptabilidad para la toma de muestras de sedimento.

Fuente: EPA, 2001

Muestreo por medio de Draga	
✓	La draga no se encuentra sobrecargada, por lo que la superficie de los sedimentos está en contacto con la parte superior de la draga.
✓	Se registra agua en la superficie de la muestra, esta debe ser retirada antes que la muestra de sedimento.
✓	El agua en superficie es relativamente clara, no se observa turbidez
✓	La interface agua – sedimento se encuentra intacta y relativamente plana
✓	La profundidad de muestreo deseada fue alcanzada por la draga
✓	No existe evidencia de pérdida de sedimentos
Muestreo por medio de corer sampler	
✓	El core fue colectado a la profundidad deseada, sin pérdida de sedimentos
✓	El core no fue insertado en un ángulo inadecuado para la recuperación de la muestra



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

6.3 Organismos biológicos

El ambiente a muestrear determinará el tipo de equipo y forma de muestreo más adecuados. En general los muestreos o mediciones llevados a cabo en playas de arena o fangos del submareal, requieren de métodos distintos de los aplicados a las costas rocosas o ambientes del intermareal.

Existen numerosas fuentes de contaminación potencial para las muestras, las siguientes son algunas precauciones básicas a tomar en los muestreos destinados al estudio de la contaminación:

- Los recipientes y contenedores de muestras, nuevos o usados, deben ser limpiados cuidadosamente antes de su uso.
- Utilizar sólo el recipiente recomendado para cada tipo de muestra. Usar preservativos libres de contaminantes.
- La parte interior de las bolsas o recipientes y sus tapas no deben ser tocadas.
- Los recipientes deben permanecer tapados hasta su uso.
- Mantener los recipientes y bolsas, con y sin muestras dentro de heladeras.
- La limpieza del vehículo de transporte es esencial para evitar la contaminación. Los derivados de petróleo (bencina, aceites y gases de combustión) son fuentes primarias de contaminación. Los derrames de combustible, comunes en las embarcaciones, deben ser cuidadosamente lavados.
- El humo de cigarrillos y combustión pueden contaminar las muestras con metales pesados.

En adición en los muestreos destinados a la descripción general de un ambiente:



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Los equipos de muestreo (dragas o corer por ejemplo) deben ser limpiados cuidadosamente entre muestras; esta limpieza debe ser extendida a los equipos de tamizado.
- Si para contener las muestras se usan recipientes usados, éstos deben asimismo estar bien limpios.

Para evitar el deterioro de las muestras se debe tener en cuenta que:

- No se debe permitir que las muestras se calienten, ellas deben almacenarse en contenedores que permitan enfriarlas a unos 4° C; el uso de cooler son apropiados para tal fin, acondicionados con “ice packs” en cantidad suficiente.
- Algunas muestras deben ser congeladas hasta su análisis en el laboratorio, para lo cual deben ser trasladadas con hielo seco (o con “ice packs” especiales de -21°C).
- Por otra parte, no se debe permitir que las muestras se congelen a no ser que esto sea parte del protocolo de conservación.
- Las muestras deben ser enviadas al laboratorio sin demora, de manera que éstas lleguen preferiblemente dentro de las 24 horas de obtenidas.

Muestreo del intermareal rocoso: Los ambientes del intermareal son relativamente fáciles de muestrear, ya que los equipos utilizados son simples (ej. Cuadrados de muestreo), y no se requiere el uso de buzos o botes.

En el muestreo de ambientes intermareales resulta imprescindible el conocimiento previo del régimen de mareas del lugar y de la hora de ocurrencia, para el día (o días) de muestreo, de la marea baja o de la alta.

Para el muestreo se contemplan los siguientes pasos.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Determinar la hora a la cual la marea está alta o baja (a partir de Tabla de marea Oficial, Servicio Hidrográfico y Oceanográfico de la Armada de Chile). Comenzar las actividades preparatorias del muestreo (en el sitio de trabajo) una o dos horas antes de esta hora.
- Marcar los niveles o estaciones de muestreo (utilizar marcas que puedan removerse) y establecer la distancia vertical existente entre cada uno de ellos y/o entre éstos y el nivel de la marea baja del día.
- En cada nivel tomar las muestras de bivalvos al azar de similar tamaño con ayuda de una espátula (metálica o plástica, dependerá del análisis a realizar) en un área de 10x10
- Asegurar un tamaño de cuadrado de muestreo representativo y un número suficiente de réplicas.
- Llevar a cabo las mediciones de campo del agua a nivel de la marea baja, o en cada una de las estaciones de muestreo cuando el agua las cubra y/o si el muestreo las incluye.
- Almacenar las muestras en bolsas plásticas, cuidadosamente etiquetadas y mantenidas a 4°C.

Muestreo del intermareal de fondos blandos:

- Determinar la hora a la cual la marea está alta o baja (a partir de Tabla de mareas), elegir preferentemente la marea alta.
- Marcar los niveles o estaciones de muestreo (estacas), a medida que estos vayan descubriendo y establecer la distancia vertical existente entre cada uno de ellos y/o entre ellos y el nivel de la marea baja del día.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- En cada nivel tomar las muestras de acuerdo a los protocolos respectivos (para meiobentos, macrozoobentos, etc.). Asegurar un tamaño de cuadrado de muestreo representativo y un número suficiente de réplicas.
- En cada estación tomar muestras del sedimento con un muestreador de tubo tipo core.
- Vaciar el contenido de la muestra en un tamiz de la malla adecuada y tamizar (bajo agua) para separar los organismos del sedimento. Guardarlos en recipientes (fijar si fuera necesario) y etiquetar.
- Para el caso de poliquetos, las muestras deben ser cernidas en tamices de 500 μ para el análisis de la fauna y la identificación de especie una vez en laboratorio.

Muestreo de aguas someras (buceo):

- Anclar el bote, ubicar la estación de muestreo (con GPS) y tomar la profundidad. Anotar estos valores en la libreta de campo.
- Tomar mediciones de campo con una sonda multiparámetro en la capa de agua adyacente al fondo. En caso de que el cable de la sonda no alcance el fondo, tomar una muestra con una botella Van Dorn para llevar a cabo las mediciones de campo en la cubierta del. Anotar las lecturas correspondientes.
- Tomar las muestras de organismos bentónicos con un cuadrado de muestreo
- Con un muestreador de tubo tomar una muestra de sedimento o alternativamente una muestra representativa de roca para su identificación.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOSCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Para el caso de poliquetos, las muestras deben ser cernidas en tamices de 500 μ para el análisis de la fauna y la identificación de especie una vez en laboratorio.

Muestreo en aguas profundas:

- Llevar a cabo el muestreo del agua próxima al fondo con una botella Van Dorn o equivalente. Tomar la ubicación de la estación con GPS y determinar su profundidad (anotar hora)
- Tomar una o más muestras con draga (para muestreos cuantitativos). Anotar la ubicación, profundidad y hora de cada lance de draga.
- Una vez la draga en cubierta, abrir la tapa de muestreo superior y tomar con la ayuda de un muestreador de tubo o pala una o más muestras del sedimento colectado, preferentemente en la parte central de la muestra (hasta unos 10 cm de profundidad).
- Guardar estas muestras debidamente identificadas.
- Vaciar el restante contenido de la draga en un cajón plástico y proceder a tamizar la muestra. Lavar la draga cuidadosamente.
- En forma complementaria o alternativa llevar a cabo uno o más lances con otros equipos de tipo cualitativo (si se requiere). Anotar la ubicación (GPS) del inicio y del final de cada lance de rastra, su profundidad y hora. Estandarizar el tiempo de los lances.
- Una vez recuperada la rastra, vaciar su contenido en uno o más cajones o bandejas grandes. Elaborar la muestra. Lavar la rastra cuidadosamente.
- Para el caso de poliquetos, las muestras deben ser cernidas en tamices de 500 μ para el análisis de la fauna y la identificación de especie una vez en laboratorio.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Conservación de bivalvos vivos:

Transporte inferior a las 24 horas

- Colectar, con los métodos más adecuados, la cantidad de ejemplares que aseguren un tamaño de muestra (compuesta o individual) adecuado para el análisis a encarar.
- Para análisis generales: Transportar a los animales en una heladera (con cámara húmeda e ice-packs), dentro de recipientes plásticos con tapa y etiqueta de identificación interna.
- Para análisis de metales: Transportar a los animales en una heladera (con cámara húmeda y grillas plásticas), dentro de recipientes plásticos con tapa y etiqueta de identificación interna. Envolver los ice-packs dentro de una bolsa tipo zip-lock.
- Para análisis de sustancias orgánicas traza: Transportar a los animales en una heladera (con cámara húmeda y grillas metálicas), dentro de recipientes de metal, porcelana o esmaltados, tapados con film aluminio grueso perforado y etiqueta de identificación interna. Alternativamente envolver a los animales con film de aluminio con perforaciones (doble de ser necesario). Envolver los ice-packs dentro de film de aluminio (doble).

Los macroinvertebrados más delicados (bivalvos submareales, langostinos, centollas, etc.), mueren rápidamente una vez que han sido extraídos del agua. Para su transporte es suficiente con una heladera de convencional con ice-packs de enfriamiento, siempre y cuando el transporte sea inferior a las 24 horas.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Transportes de hasta unas 24 horas

- Colectar, con los métodos más adecuados, la cantidad de ejemplares que aseguren un tamaño de muestra (compuesta o individual) adecuado para el análisis a encarar.
- Para análisis generales: Transportar a los animales en heladera de telgopor, dentro de recipientes plásticos con tapa hermética y etiqueta de identificación interna. Enfriar con ice-packs.
- Para análisis de metales: Transportar a los animales en heladera, dentro de recipientes plásticos o de vidrio, con tapa hermética, o en bolsas tipo ziplock. Colocar etiqueta de identificación interna. Enfriar con ice-packs envueltos en bolsas limpias tipo zip-lock.
- Para análisis de sustancias orgánicas traza: Transportar a los animales en heladera, dentro de recipientes de metal, vidrio (con contratapa de film de aluminio) o porcelana, tapados con film aluminio grueso y etiqueta de identificación interna. Alternativamente envolver a los animales con film de aluminio (doble). Envolver los ice-packs dentro de film de aluminio (doble).

Si los muestreos son llevados a cabo con una embarcación que no vuelve a puerto en menos de 24 horas, entonces es deseado congelar las muestras en las instalaciones que disponga la embarcación, evitando toda posible contaminación. Se sugiere guardar las muestras dentro de los recipientes adecuados hasta su congelación, luego guardarlas dentro de heladeras bien selladas.

Para transportes de más de 24 horas se sugiere congelar las muestras con hielo seco o equivalente.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Transportes de más de 24 horas

- Colectar, con los métodos más adecuados, la cantidad de ejemplares que aseguren un tamaño de muestra (compuesta o individual) adecuado para el análisis a encarar.
- Para análisis generales: Transportar a los animales en heladera, dentro de recipientes plásticos con tapa hermética o en bolsas tipo ziplock. Colocar etiqueta de identificación interna. Enfriar con ice-packs de congelación o hielo seco.
- Para análisis de metales: Transportar a los animales en heladera, dentro de recipientes plásticos con tapa hermética o en bolsas tipo ziplock. Colocar etiqueta de identificación interna. Enfriar con hielo seco o ice-packs de congelación envueltos en bolsas limpias tipo zip-lock.
- Para análisis de sustancias orgánicas traza: Transportar a los animales en heladera, dentro de recipientes de metal, vidrio (con contratapa de film de aluminio) o porcelana, tapados con film aluminio grueso y etiqueta de identificación interna. Alternativamente envolver a los animales con film de aluminio (doble). Enfriar con hielo seco o ice-packs de congelación envuelto/s dentro de film de aluminio (doble)

Recomendaciones

- Los animales adheridos a caños metálicos, cascos de barcos, u otras superficies que sean potenciales causas de contaminación, no deben ser incluidos en las muestras.
- Uniformizar el tamaño de los ejemplares recolectados: por ejemplo en bivalvos se acostumbra colectar animales de unos 4 a 5 cm de largo (borde

anterior-borde posterior) (Figura 12 a), en langostinos de 8 a 10 cm de largo (rostro-telson) (Figura 12 b), en cangrejos de 2 a 4 cm de largo de caparazón.

- En los muestreos de cangrejos es suficiente conservar una de las quelas en lugar de todo el animal. Este procedimiento disminuye las probabilidades de contaminación de la muestra.

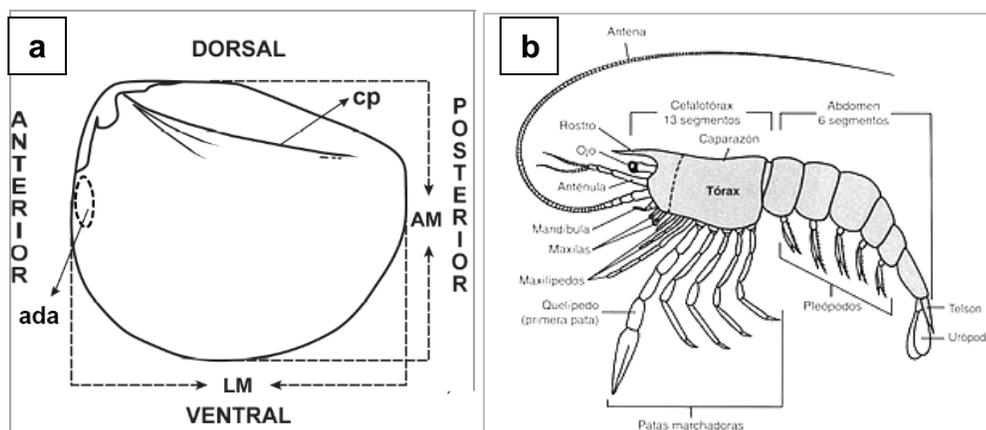


Figura 12. a. Medida de tamaño en bivalvos; b. Medida de tamaño en crustáceos.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

7. PROTOCOLOS DE ANÁLISIS

7.1 COLUMNA DE AGUA

a. TEMPERATURA – 2550 B (STANDARD METHODS FIELD MEASUREMENTS)

Las lecturas de temperatura son usadas en operaciones generales de laboratorio. En estudios limnológicos, a menudo se requiere el conocimiento de este parámetro como una función de la profundidad. Además, las temperaturas elevadas que resultan de descargas de agua caliente pueden tener un impacto ecológico significativo. Normalmente, las medidas pueden hacerse con un termómetro Celsius (centígrado) con columna de mercurio, el cual mínimo debe tener escala marcada cada 0.1°C . Para prevenir rupturas en labores de campo, se recomienda un termómetro con cazoleta protectora. En la actualidad se emplean muchos medidores electrónicos provistos con sondas, los cuales poseen termocuplas o termistores en su interior.

Alcance y aplicación

Este método es aplicable a todo tipo de aguas naturales, efluentes industriales y domésticos. Su precisión viene dada por el equipo utilizado para la determinación; existen termómetros de mercurio que permiten mediciones con $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$, y equipos electrónicos con sensores (termo-resistencias y termocuplas), que permiten precisión de $\pm 0.01^{\circ}\text{C}$.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Toma de muestra, almacenamiento y preservación

La medición de temperatura en muestras ambientales debe ser una labor realizada *in situ*, y no aplica por ello los procedimientos de almacenamiento y preservación. El mejor método para la lectura de este parámetro es introducir directamente los equipos de medición (termómetro o sonda) en el cuerpo de agua.

Materiales y equipos

- Termómetro de mercurio
- Termómetro invertido
- Sonda con sensor de temperatura

Procedimiento

Las muestras en campo deben medirse directamente en la columna de agua introduciendo la sonda y procurando mantenerla siempre a la misma profundidad (25 cm por debajo de la superficie). Para tomar la temperatura en el fondo de la columna de agua es conveniente el uso de botellas que posean termómetros invertidos, o el uso de sondas que puedan bajar hasta el lugar donde se necesita leer. Si no se dispone de estos materiales, se toma la muestra con una de las botellas de muestreo (Nansen o Niskin) y se transfiere la mayor cantidad de agua a un recipiente grande (balde, con el fin de minimizar los errores por la transferencia de calor con el ambiente), y se introduce la sonda o termómetro, se mantiene una agitación constante con movimientos circulares y se registra el valor de temperatura; esta operación debe hacerse lo más rápido posible.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

i. Calibración o Contrastación

Con miras a los procesos de validación y certificación de los laboratorios ambientales, los termómetros y sensores de temperatura deben calibrarse al menos una vez al año por una institución competente, o contra termómetros certificados, siguiendo el protocolo para cada equipo y/o fabricante.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

b. SALINIDAD – 2520 B (SALINITY - STANDARD METHODS)

El conocimiento de la salinidad es fundamental en estudios oceanográficos, pues es necesario para la determinación de corrientes y la identificación de masas de aguas. En estudios ambientales es un factor importante porque puede significar la presencia o no de organismos y peces.

Martín Knudsen, en 1901, la definió como el número total de gramos de material sólido disuelto en un kilo de agua de mar. Cuando el carbonato ha sido convertido en óxido, el bromo y el yodo han sido reemplazados por cloro y toda la materia orgánica ha sido completamente oxidada, después de secar la muestra a una temperatura de 480°C (Margalef, 1982).

La salinidad se puede calcular a partir de la conductividad, el resultado es numéricamente menor que el residuo filtrable y se reporta usualmente como gramos por Kg o partes por mil (psu ó ‰). La mayor parte de las sales disueltas en el agua de mar están en forma de halogenuros, que, a excepción del flúor, se determinan globalmente por argentimetría. La salinidad se puede determinar a partir de la conductividad eléctrica, gravedad específica o con equipos tales como el salinómetro de inducción o el refractómetro; de todos, el menos preciso es este último.

Actualmente en la mayoría de laboratorios se mide por medio de la conductividad, la cual se define como la capacidad que tiene una sustancia de transportar electrones (conducir electricidad); en el agua, esta capacidad se ve influenciada por la cantidad de sales disueltas y la temperatura. Esto significa que a mayor contenido de sales, mayor conductividad; de esta forma, se puede emplear esta propiedad para medir el contenido de sales en una muestra de agua.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Hoy en día existen equipos que miden la conductividad y la temperatura de una muestra de agua, y calculan la salinidad a través de programas electrónicos internos. Si no se dispone de un equipo de estos, también se puede determinar con un conductímetro, un termómetro y haciendo uso del algoritmo reportado en “*Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*”, 20th. La ecuación para la conductividad relativa a la temperatura t (R_t) puede ser tomada de «*Specific Conductance: Theoretical considerations and application to analytical quality control*» por R.L. Miller, W.L. Bradford, y N.E. Peters.

En los salinómetros de inducción se genera un campo eléctrico que induce una corriente eléctrica a través de una bobina por la que circula el fluido; esta corriente generada es proporcional a la salinidad de la muestra, De esta manera se emplea dicha propiedad para medir la concentración de sales disueltas en un líquido.

Alcance y aplicación

El método conductimétrico es aplicable a todo tipo de aguas naturales, especialmente de mar. También es aplicable a efluentes industriales y domésticos. Su precisión viene dada por el equipo utilizado para la determinación, generalmente salinómetros - conductímetros, que permiten mediciones con $\pm 0.1\%$. Existen equipos como los salinómetros de inducción que tienen una precisión de $\pm 0.0003\text{‰}$.

Toma de muestra, almacenamiento y preservación

De la botella Nansen o Niskin la muestra se pasa a una botella de polietileno de 500 ml previamente purgada y se tapa para prevenir la evaporación. La lectura se realiza una vez llegado al laboratorio, si no es posible en el mismo día, la muestra debe refrigerarse a 4 °C sin sobrepasar los siete días de almacenamiento.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Materiales y equipos

- Salinómetro –conductímetro o salinómetro de inducción
- Beakers

Reactivos

- Agua estándar de mar de 35 ‰
- Soluciones de KCl

Procedimiento

- Las muestras en campo pueden medirse directamente introduciendo la sonda en la columna de agua y procurando sumergirla siempre a la misma profundidad (25 cm por debajo de la superficie).
- Para muestras extraídas del fondo de la columna, se transfiere de la botella de muestreo a una botella de polietileno; en el momento de realizar la lectura se introduce la sonda en la botella, se mantiene una agitación constante con movimientos circulares y se registra el valor de la salinidad y la conductividad.

i. Calibración o Ajuste

La calibración o ajuste, se efectúa a partir de agua de mar estándar de 35 partes por mil de salinidad, si el equipo es conductímetro – salinómetro; para la calibración se pueden emplear estándares de conductividad comerciales o soluciones de KCl de concentración conocida, siguiendo las indicaciones del manual del equipo.

ii. Cálculos

El salinómetro da directamente la medida de la salinidad en psu; en el caso de no contar con este equipo y disponer sólo de un conductímetro se recurre al algoritmo reportado en *Standard Methods, Ed. 1998*:



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

$$\text{Salinidad} = 0.008 - 0.1692 * Rt^{0.5} + 25.3851 * Rt + 14.0941 * Rt^{1.5} - 7.0261 * Rt^2 + 2.7081 * Rt^{2.5} + (T - 15) * (0.0005 - 0.0056 * Rt^{0.5} - 0.0066 * Rt - 0.0375 * Rt^{1.5} + 0.0636 * Rt^2 - 0.0144 * Rt^{2.5}) / (1 + 0.0162 * (T - 15))$$

$$Rt = Co / 42914 / (0.6766097 + 0.0200564 * T + 0.0001104259 * T^2 - 0.00000069698 * T^3 + 0.000000010031 * T^4)$$

$$Co = Ce * (1 + 0.0184 * (T - 25))$$

Rt = Conductividad relativa a la temperatura de la muestra

Ce = Conductividad específica a 25 °C

Co = Conductividad a la temperatura de la muestra



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

c. SÓLIDOS SUSPENDIDOS – 2540 D (TOTAL SUSPENDED SOLIDS DRIED AT 103 – 105° C - STANDARD METHODS)

El término “sólidos” se refiere a la materia sólida suspendida o disuelta en el agua o en sus desechos. Los sólidos pueden afectar adversamente la calidad de las aguas en varias formas: aguas con alto contenido de sólidos son menos agradables para el gusto humano y pueden inducir a una reacción fisiológica desfavorable en el consumidor.

Aguas altamente mineralizadas también son poco aptas para muchas aplicaciones industriales, por estas razones un límite de 500 mg/l de sólidos es deseable para aguas potables. Las aguas altamente mineralizadas son inútiles para muchas aplicaciones industriales; y las que poseen altos contenidos de sólidos disueltos pueden ser estéticamente insatisfactorias para propósitos como el baño (APHA, 1998).

Los sólidos totales son el material residual resultante en un recipiente luego de la evaporación de una muestra y su subsecuente secamiento en un horno a temperatura definida y constante; es decir, representan la suma de los sólidos disueltos o no retenidos a través de un filtro y los sólidos no disueltos o retenibles por filtración. Por tal razón, los diferentes tipos de sólidos son definidos arbitrariamente por el técnico al momento del análisis, según el método usado para su determinación.

Los resultados para sólidos totales, volátiles y fijos están sujetos a errores considerables, por pérdida de compuestos volátiles durante la evaporación de CO₂ y minerales volátiles durante la calcinación.

Los resultados de muestras que contengan aceites o grasas pueden ser de valores cuestionables por la dificultad en el secado a peso constante en un tiempo



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

razonable. En aguas altamente mineralizadas con significantes contenidos de calcio, magnesio, cloruros y/o sulfatos pueden ser higroscópicos y requerir prolongados tiempos de secado; con la desventaja de ganar rápidamente peso durante la operación de pesado.

El analista debe seleccionar la temperatura que mejor se ajuste a la muestra. En cualquier caso deberá informarse la temperatura de secado. Los envases plásticos son satisfactorios para la preservación de las muestras, las cuales deberán ser analizadas rápidamente para minimizar la posibilidad de cambios físicos o químicos durante el almacenaje. Deben excluirse partículas no representativas tales como restos de madera, organismos o materiales fecales presentes en la muestra.

Alcance y aplicación

Los métodos que se describen a continuación son aplicables a todo tipo de aguas naturales, efluentes industriales y domésticos; con los inconvenientes expuestos anteriormente. La precisión de los mismos está relacionada con el proceso de pesaje, por lo tanto, es aconsejable utilizar una balanza analítica (Figura 13) que de ± 0.0001 g de precisión, aunque en el mercado ya es fácil conseguir las de ± 0.00001 g.



Figura 13. Balanza analítica empleada para la determinación de sólidos en muestras de agua.

Sólidos totales a 103 – 105°C

Una muestra bien mezclada se evapora en una cápsula secada a peso constante en una estufa a 103 - 105 °C; el incremento de peso de la cápsula vacía representa el residuo total. Aunque en muestras de aguas residuales los resultados pueden no representar el peso real de sólidos disueltos y suspendidos, esta es una determinación útil en plantas de control.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Precisión del método

Análisis por duplicado de 41 muestras de agua y aguas de desecho fueron hechas encontrándose una desviaciones estándar de las diferencias de 6.0 mg/l (APHA, 1998).

Toma de muestra, almacenamiento y preservación

De la botella Nansen o Niskin se llena un frasco de vidrio o polietileno con la muestra; de este mismo se puede extraer sub-muestras para la determinación de todos los sólidos (totales, suspendidos y volátiles); la cantidad recolectada debe ser la suficiente para permitir tal fin. Hay que tener precaución en el muestreo de aguas con alto contenido de sólidos sedimentables; la forma alargada de las botellas muestreadoras y un flujo muy lento para extraer la muestra por la llave, facilitan la sedimentación de los sólidos provocando diferencia en este parámetro entre las primeras y las últimas botellas receptoras que se llenan.

La muestra debe transportarse refrigerada al laboratorio a 4°C. Si el análisis no se puede realizar de inmediato se debe almacenar refrigerada por un periodo no superior a siete días. Antes de realizar el análisis se debe homogenizar la muestra agitándola fuertemente.

Materiales y equipos

- Cápsulas de porcelana de 100 ml
- Mufla con rango de temperatura (T° ambiente – 1100°C)
- Horno con rango de temperatura (T° ambiente -250 +/- 5 °C)
- Estufa de secado



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Desecador
- Balanza analítica (+/- 0.0001g)

Procedimiento

- Colocar una cápsula de porcelana limpia en una mufla a ignición a 550 °C por una hora. Enfriar, desecar, pesar y guardar la cápsula en un desecador hasta ser utilizada.
- Transferir un volumen conocido de la muestra a la cápsula (50 ml) y evaporar a sequedad en un horno de secado a una temperatura de 98°C para evitar ebullición y salpicaduras; elegir un volumen de muestra que produzca un residuo mínimo de 25 a 250 mg. Este volumen puede estimarse a partir de la conductividad; si es necesario, se pueden adicionar cantidades sucesivas de muestras a la misma cápsula.
- Mantener durante una hora a 103 - 105 °C una vez evaporada
- Enfriar el recipiente en un desecador y posteriormente pesar.
- Repetir el ciclo de secado a 103 - 105 °C, enfriando, desecando y pesando hasta obtener un peso constante o hasta que la pérdida de peso sea menor que el 4% del peso previo.
-

i.Cálculos

Los sólidos totales se calculan como:

$$\text{Sólidos (g/l)} = \left(\frac{(A - B) \times 1000}{ml(\text{muestra})} \right)$$



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

A = Peso cápsula más la muestra (g)

B = Peso cápsula (g)

ii. Recomendaciones

Se deben excluir partículas grandes flotantes o aglomeradas sumergidas de materiales no heterogéneos en la muestra, y dispersar la grasa o el aceite flotante visible con un agitador antes de retirar una porción de muestra para el análisis.

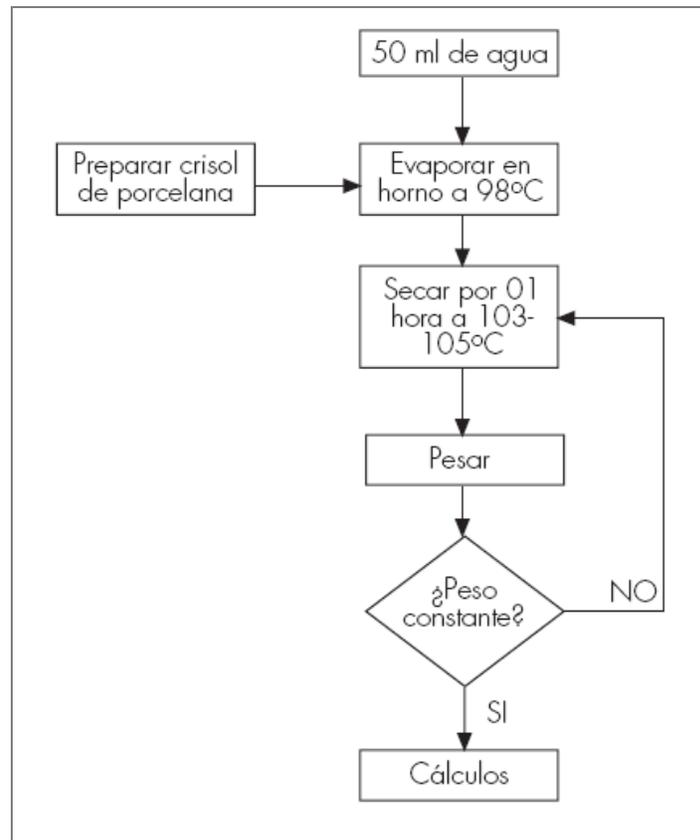


Figura 14. Diagrama de flujo para el análisis de sólidos totales.

Fuente: INVEMAR, 2003



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Sólidos totales en suspensión (seco a 103 – 105 °C)

Los sólidos totales en suspensión son el material retenido sobre un filtro estándar después de la filtración de una muestra bien mezclada de agua. Estos sólidos son secados a 103 - 105 °C. Si el material suspendido se atasca en el filtro prolongando el tiempo de filtración, puede ser necesario incrementar el diámetro de los filtros o decrecer el volumen de muestra. Para obtener un estimativo de los sólidos en suspensión se puede calcular la diferencia entre los sólidos totales y los filtrables (disueltos) totales.

Precisión del método

En estudios hechos sobre dos analistas en cuatro sets de 10 determinaciones cada uno, la desviación estándar fue 5.2 mg/l (coeficiente de variación 33%) a 15 mg/l, 24 mg/l (10%) a 242 mg/l, y 13 mg/l (0.76%) a 1707 mg/l. Así mismo, se hicieron análisis por duplicado de 50 muestras de agua y aguas de desecho, encontrándose una desviación estándar de las diferencias de 2.8 mg/l. (APHA, 1998).

Toma de muestra, almacenamiento y preservación

Ver numeral 4.5 – 4.6

Materiales y equipos

- Filtro (Millipore) o de fibra de vidrio
- Equipo de filtración
- Horno con rango de temperatura (T° ambiente - 250 +/- 5 °C)
- Estufa de secado
- Desecador

- Balanza analítica (+/- 0.0001g)

Reactivos

- Caolín
- Agua des-ionizada

Procedimiento

i.Preparación del filtro

- Colocar el filtro en un equipo de filtración y aplicar vacío
- Lavar con 3 porciones sucesivas de 20 ml de agua desionizada
- Secar durante una hora a 103 - 105 °C hasta obtener peso constante
- Colocar en desecador durante 30 minutos
- Pesar el filtro antes de usarlo

ii. Tratamiento de la muestra

- Colocar el filtro en el equipo de filtración y pasar un volumen conocido (ml) de muestra, aplicando vacío
- Enjuagar el embudo y el filtro con agua desionizada
- Remover y secar el filtro en un horno a 103 -105 °C
- Llevarlo al desecador durante 30 minutos y pesar hasta alcanzar peso constante

Nota: Para muestras con altos contenidos de sales disueltas es necesario enjuagar el filtro con agua desionizada para evitar problemas durante la pesada.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

iii. Calibración o Validación

Este método es necesario validarlo con miras a la acreditación de los laboratorios, para tal fin se evalúa el porcentaje de recuperación a partir de muestras con concentración conocida de caolín.

iv. Cálculos

El contenido de sólidos suspendidos totales se calcula como:

$$SST \text{ (mg / l)} = \left(\frac{(A - B) \times 10^6}{\text{ml (muestra)}} \right)$$

A = Peso filtro + residuo (g)

B = Peso filtro (g)

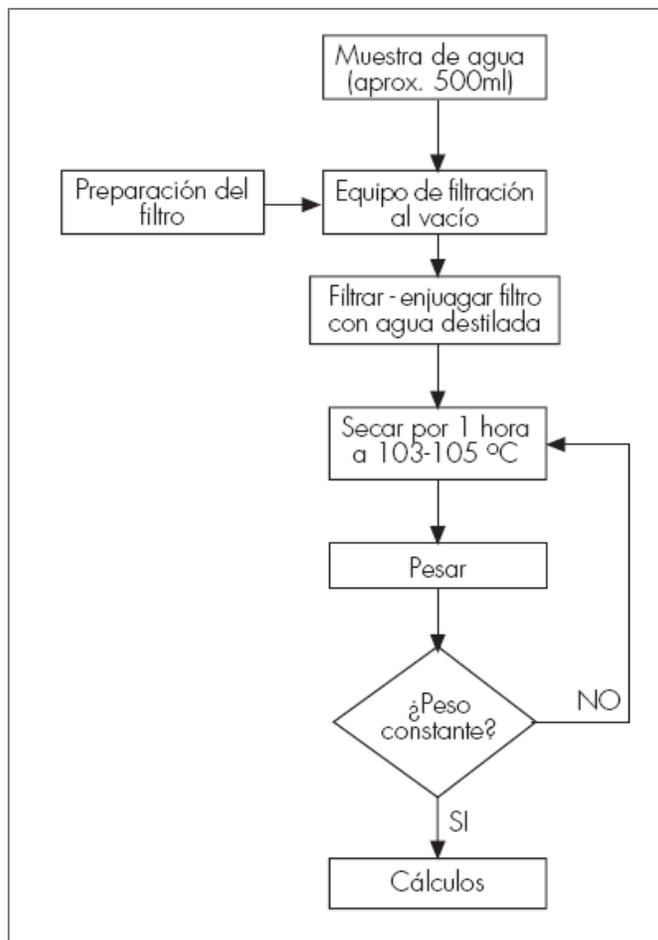


Figura 15. Diagrama de flujo, pasos para llevar a cabo el análisis de sólidos suspendidos totales.

Fuente: INVEMAR, 2003



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Sólidos fijos y volátiles totales a 550°C

Los componentes fijos y volátiles de los sólidos totales pueden ser determinados por ignición de la muestra a 550 +/- 25 °C. Esta determinación ofrece una aproximación de la cantidad de materia orgánica presente en la fracción sólida del desecho.

Precisión del método

Los errores negativos pueden ser producidos por pérdida de materia volátil durante el secado. En estudios realizados por tres laboratorios sobre cuatro muestras y 10 replicas, la desviación estándar fue de 11 mg/l a 170 mg/l de sólidos volátiles totales.

Toma de muestra, almacenamiento y preservación

Ver numeral 4.5 – 4.6

Materiales y equipos

- Mufla con rango de temperatura (T° ambiente –1100 °C)
- Horno con rango de temperatura (T° ambiente –250 +/- 5 °C)
- Balanza analítica (+/- 0.0001 g)
- Equipo de filtración
- Cápsulas de porcelana de 100 ml
- Desecador

Procedimiento

- Evaporar a 103 - 105 °C en una cápsula de porcelana un volumen conocido de muestra homogeneizada (50 ml)
- Someter a ignición el residuo obtenido hasta obtener peso constante en una mufla a 550 °C entre 15 y 20 minutos
- Dejar enfriar la cápsula parcialmente en el aire hasta que la mayor parte del calor se haya disipado y transfírala al desecador para enfriamiento total
- Una vez enfriada, pesar. Reportar como sólidos volátiles el peso perdido, y como residuo fijo total el material presente en la cápsula

i.Cálculos

Los sólidos volátiles se calculan como:

$$\text{Sólidos Volátiles (mg / l)} = \left(\frac{(A - B) \times 10^6}{\text{ml (muestra)}} \right)$$

$$\text{Sólidos Fijos (mg / l)} = \left(\frac{(B - C) \times 10^6}{\text{ml (muestra)}} \right)$$

A = Peso de la cápsula mas residuo antes de ignición (g)

B = Peso de la cápsula mas residuo después de ignición (g)

C = Peso de la cápsula vacía (g)

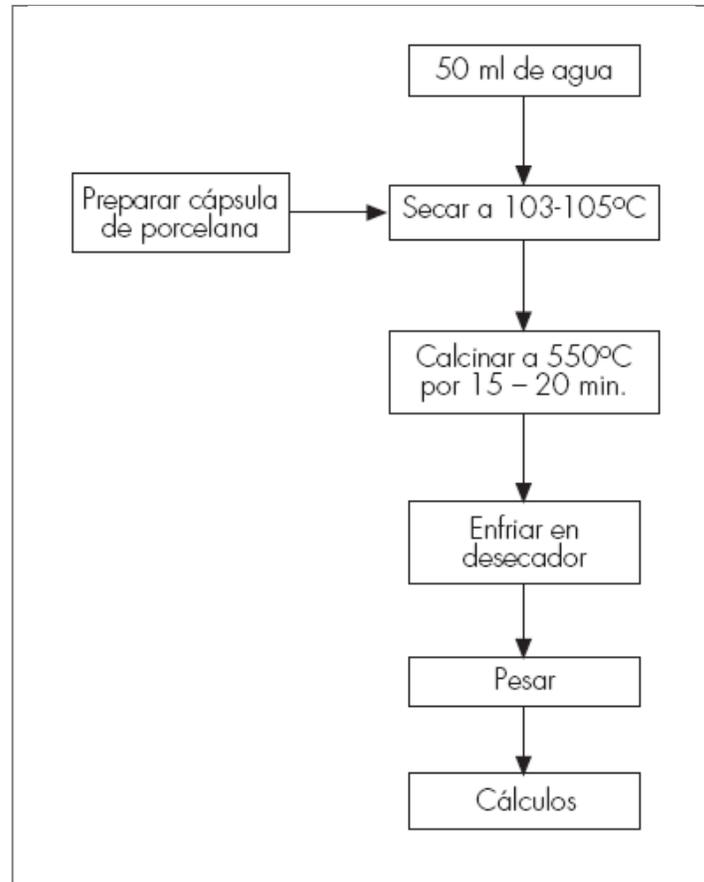


Figura 16. Diagrama de flujo para la realización del análisis de sólidos fijos y volátiles.

Fuente: INVEMAR, 2003



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

d. METALES (3020 A; 3112 B – STANDARD METHOD)

De acuerdo con su concentración, los efectos de los metales en aguas naturales y residuales varían desde beneficiosos hasta peligrosamente tóxicos. Algunos metales son esenciales, otros afectan adversamente a los consumidores del agua, a los sistemas de tratamiento y a las aguas receptoras. En el ambiente acuático, los metales se encuentran ya sea en forma de especies solubles (iones hidratados o complejos metálicos con ligandos orgánicos) o en forma de material particulado insoluble (material coloidal o complejos metálicos absorbidos por material en suspensión). En estas condiciones, es obvio que su estado químico tenga una marcada influencia sobre el procedimiento analítico. Pueden determinarse adecuadamente por métodos instrumentales o colorimétricos. Existe una mayor aceptación por los métodos instrumentales debido a que son rápidos y los efectos matrices a menudo son controlables sin muchos procesos de separación. Para cualquier método que se aplique, se recomienda el pre-tratamiento específico de las muestras, de acuerdo con los resultados que se quiera alcanzar a través de la determinación. Las extracciones con metil isobutil cetona (MIBK) y ditiocarbamato de pirrolidín amonio (APDC) son particularmente usadas cuando hay interferencias de una matriz salina, por ejemplo, en el agua de mar. Este procedimiento también concentra la muestra hasta los límites de detección que son requeridos (APHA, 1998). En la cuantificación final de cada metal se emplean dos técnicas analíticas: la espectrofotometría de absorción y la de emisión atómica.

La espectrofotometría de absorción atómica por llama, cuyo principio es el paso de un haz de luz a través de una llama a un monocromador y a un detector que mide la cantidad de luz absorbida por el elemento atomizado en la llama. Debido a que



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

cada metal tiene su longitud de onda característica a la cual absorbe, se usan lámparas compuestas del elemento que se está midiendo; esto hace el método relativamente libre de interferencias espectrales. La cantidad de energía absorbida en la llama es proporcional a la concentración del elemento en la muestra sobre un limitado rango de concentración.

En la espectroscopia de emisión atómica inductivamente acoplada – ICPS, la muestra es atomizada dentro de una antorcha de argón, que con ayuda de un campo magnético, induce a la absorción y posterior emisión de energía por los metales en estado iónico. La radiación es analizada con un sistema óptico y fotodiodos. La intensidad de la energía emitida es proporcional a la cantidad de metal en la muestra, además, esta técnica permite la determinación simultánea de varios elementos ya que se establecen las diferentes longitudes de ondas de lectura para los distintos metales presentes.

Se propone la utilización del Método 3020 A, ACID DIGESTION OF AQUEOUS SAMPLES AND EXTRACTS FOR TOTAL METALS FOR ANALYSIS BY GFAA SPECTROSCOPY (en muestras filtradas), para Cadmio y Plomo.

Para la determinación de mercurio se propone la metodología por espectroscopia de absorción atómica con vapor frío 3112 B.

MÉTODO 3020 A

Alcance y aplicación

Este método permite la extracción de cobre, cadmio, hierro, zinc, plomo, manganeso, plata y cromo +6. Es aplicable a todo tipo de aguas, en especial las



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

marinas, y permite detectar en el extracto concentraciones del orden de 10^{-6} a 10^{-7} g/l del metal en cuestión.

Toma de muestra, almacenamiento y preservación

Antes de coleccionar una muestra, debe conocerse la fracción de metal a analizar, pues de ello depende el tratamiento que se le da a la muestra. Durante el muestreo puede haber contaminación por el instrumental utilizado, presencia de residuos de muestreos previos en los recipientes de muestreo y/o pérdida de metales por absorción y/o precipitación por falta de acidificación de las muestras en el momento oportuno. Los mejores contenedores son recipientes hechos de cuarzo; pero debido a su alto costo, se recomienda el uso de recipientes de polietileno con tapas del mismo material. Debe evitarse el uso de vidriería común y corriente para muestras que contienen metales en el rango de $\mu\text{g/l}$. Inmediatamente coleccionadas, las muestras deben acidificarse con ácido nítrico concentrado a pH 2 (usualmente 1.5 ml de ácido nítrico concentrado por litro de muestra son suficientes) para preservación a corto plazo. Para muestras con alta capacidad amortiguadora, deberá aumentarse la cantidad de ácido (pueden ser necesarios hasta 5 ml para muestras muy alcalinas). Utilizar ácido de alta pureza disponible en el mercado. Después de acidificar las muestras, deben almacenarse en un refrigerador a aproximadamente $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ para evitar cambios de volumen debido a la evaporación. Bajo estas condiciones, muestras con concentraciones de varios miligramos son estables durante 6 meses (excepto el mercurio, cuyo límite es 38 días en vidrio y 14 en plástico).

Las muestras que contienen partículas o material orgánico requieren un tratamiento antes del análisis. El análisis de metales totales incluye todos los metales tanto



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

inorgánicos como orgánicamente unidos y tanto disueltos como particulados. En caso de hacer esta determinación, debe digerirse la muestra sin previa filtración.

Materiales y equipos

- Espectrofotómetro de absorción atómica o espectrómetro de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente ICPS
- pH-metro
- Des-ionizador de agua
- Embudos de separación de 500 y 2000 ml
- Beakers de 50, 100 y 250 ml
- Erlenmeyers de 125 ml
- Pipetas de 2, 5, 10 y 20 ml
- Balones aforados de 100 ml
- Balanza analítica
- Agitador magnético
- Botellas colectoras plásticas (Niskin, Nansen)
- Botellas plásticas de policarbonato, polipropileno o polietileno

Reactivos

- *Agua libre de metales*: Preparar des-ionizando el agua o dependiendo de la concentración de metal en la muestra, por destilación y/o bidestilación.

Debe chequearse para verificar la ausencia del elemento de interés en esta agua.

- *Ácido nítrico 4N*: Diluir 251 ml de ácido nítrico concentrado a 1 L con agua des-ionizada.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- *Solución de ditiocarbamato de pirrolidín amonio al 1% (APDC; C₅H₁₂N₂S₂):*
Disolver 10.0 g de APDC en 600 ml de agua, completar 1 L y guardar refrigerado.
- Hidróxido de amonio
- Ácido clorhídrico concentrado
- Ácido nítrico concentrado
- Metilisobutilcetona (MIBK; C₆H₁₂O)
- Argón ultrapuro grado 5.0 (ICP)
- Acetileno y aire (absorción atómica)
- Soluciones de referencia para cada metal (1 g/l)

Procedimiento

- Medir 500 ml de muestra en un vaso de precipitado
- Ajustar el pH en 4.0 + 0.1 con NH₃ 25%, NH₄OH (10%) y HNO₃ (10%)
- Colocar 5 ml de APDC 1% en un embudo de separación 1L
- Agregar la muestra al embudo de separación (500 ml) y agitar durante 30 segundos
- Adicionar 20 ml de MIBK y agitar por 3 minutos
- Dejar reposar hasta observar la separación completa de las fases Desechar la fase acuosa y transferir la fase orgánica a un embudo de separación de 100 ml
- Adicionar al extracto orgánico 12.5 ml de HNO₃ 4N y agitar nuevamente durante 2 minutos
- Después de que las fases hayan separado, desechar la fase orgánica y conservar en frascos plásticos la fase ácida hasta posterior análisis
- Realizar el mismo procedimiento a por lo menos a un blanco de reactivos



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Efectuar la cuantificación de cada metal por absorción atómica o por espectroscopia de emisión atómica Inductivamente acoplada

i. Método de la adición de un patrón

Este método se utiliza ampliamente en espectroscopia de absorción atómica y consiste en:

- Transferir dos o más alícuotas de la muestra a matraces aforados
- Diluir una de las muestras al volumen previsto y obtener la absorbancia de la solución
- Agregar a la segunda alícuota una cantidad conocida del analito y luego de diluir al mismo volumen que la anterior, medir su absorbancia. También se pueden obtener datos para otras adiciones de concentraciones conocidas de analito
-

ii. Calibración o Ajuste

Debido a las diferencias entre manufacturas y modelos de espectrofotómetro de absorción, y de emisión atómica (ICPS), es imposible formular instrucciones para el manejo de cada equipo, por lo tanto, se deberá remitir al manual de operaciones suministrado por el fabricante. En forma general, la calibración de uno u otro requiere de la elaboración de curvas de calibración para cada metal que se desea analizar.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

A partir de un patrón primario, por ejemplo, de 1000 ppm, preparar soluciones de cada metal, de diferentes concentraciones para realizar una curva de calibración; siguiendo el procedimiento antes descrito, las soluciones de calibración deben prepararse en HNO₃ 4N, para el caso de aguas.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

iii. Cálculos

Determinar la concentración de cada metal, en miligramo por litro, refiriéndose a la curva de calibración correspondiente.

$$C_m = \frac{C_e \times V_e}{V_m}$$

C_m = Concentración de la muestra (mg/l ó ppm)

C_e = Concentración del extracto ($\mu\text{g/ml}$)

V_m = Volumen de muestra (ml)

V_e = Volumen del extracto (ml)

iv. Método de la adición de un patrón

Obtenidos los resultados de absorbancia, si existe una relación lineal entre la absorbancia y la concentración, se aplica la siguiente ecuación:

$$C_x = C_s \frac{A_x}{(A_t - A_x)}$$

C_x = Concentración del analito en la muestra diluida

C_s = Contribución del analito agregado como patrón

A_x , A_t = Absorbancias medidas



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Si se realizan varias adiciones, se puede graficar A_t en función de C_s . La recta resultante se puede extrapolar a $A_t = 0$. La sustitución de este valor en la ecuación anterior revela que en la intersección

$$C_x = -C_s$$

El método de la adición del patrón tiene la ventaja que tiende a compensar las variaciones debidas a las interferencias físicas y químicas en la solución de la muestra.

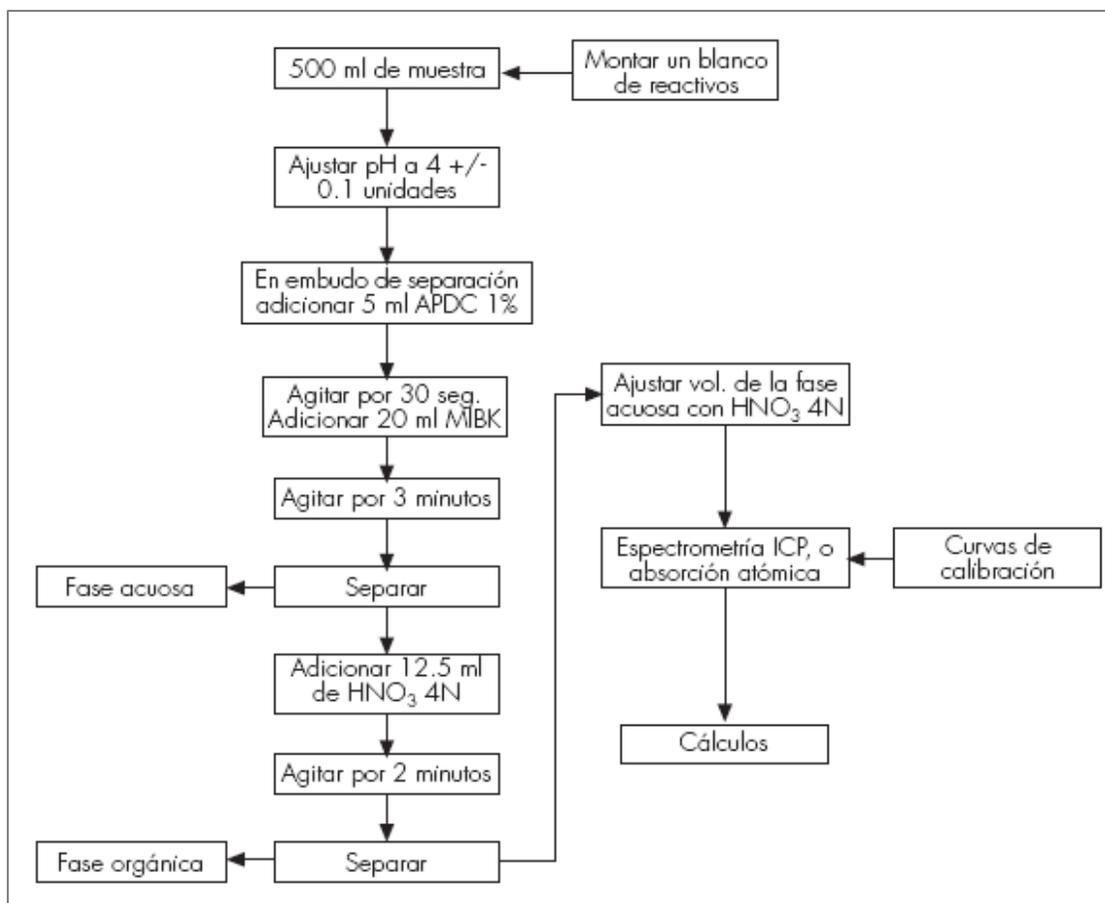


Figura 17. Diagrama de flujo para la realización del análisis de metales.

Fuente: INVEMAR, 2003

MÉTODO 3112 B

Alcance y aplicación

El método es aplicable para la determinación de mercurio.

En tabla 5 se indica la precisión del método a partir de ejercicios de interlaboratorio.

Tabla 5. Ejercicio de interlaboratorio para medir la precisión del método

Fuente: Método 3112 B, Estándar Methods, 1998

Form	Conc. $\mu\text{g/L}$	SD $\mu\text{g/L}$	Relative SD %	Relative Error %	No. of Participants
Inorganic	0.34	0.077	22.6	21.0	23
Inorganic	4.2	0.56	13.3	14.4	21
Organic	4.2	0.36	8.6	8.4	21

Materiales y Equipos

- Espectrómetro de Absorción atómica con equipo asociado
- Células de Absorción, tubos de plástico o vidrio de 2,5 cm de diámetro y con una longitud de 11,4 cm
- Célula de apoyo
- Bombas de aire, bombas peristálticas con control electrónico de velocidad, capaz de entregar 2 L de aire por minuto
- Medidor de flujo
- Matraz de reacción, matraz Erlenmeyer o botella de DBO
- Tubo de secado, 150 mm x 18 mm de diámetro



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOSCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Conector de tubos, tubo de vidrio que permita el paso del vapor de mercurio desde el matraz de reacción hacia la célula de absorción.

Reactivos

- Agua libre de metales
- Solución stock de mercurio: disolver 0.1354 g de cloruro de mercurio (HgCl_2), en 70 ml de agua, adicionar 1 ml de HNO_3 concentrado y diluir a 100 ml con agua
- Solución estándar de mercurio
- Ácido Nítrico concentrado (HNO_3)
- Solución de permanganato de potasio: disolver 50g KMnO_4 en agua y diluir a 1 L
- Solución de persulfato de potasio: disolver 50g $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ en agua y diluir a 1 L
- Cloruro de Sodio Sulfato de Hidroxilamina: disolver 120 g NaCl y 120 g $(\text{NH}_2\text{OH})_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$ en agua y diluir a 1 L.
- Solución Ión de estaño (Sn^{+2})
- Ácido Sulfúrico H_2SO_4 concentrado

Procedimiento

- Fijar la longitud de onda en 253,7 nm. Instalar la célula de absorción.
- Encender el aire y ajustar la tasa de flujo a 2 L/ min, permitir que el aire fluya
- Análisis de la muestra: transferir 100 ml de muestra o una porción diluida a 100 ml conteniendo nomás de 5 μg Hg/L a un matraz reactivo
- Para agua de mar se requiere hasta una cantidad adicional de 25 ml de solución de KMnO_4



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Durante el paso oxidativo, los cloruros son convertidos a cloro libre, el cual se absorbe a 253 nm
- Remover todo el cloro libre por medio de hidroxilamina reactiva (25 ml), antes de que el mercurio sea reducido y barrido dentro de la célula
- Remover el cloro libre por medio de aspersion con aire o nitrógeno luego de adicionar la hidroxilamina

Cálculos

Determinar la altura de la curva de la muestra registrada en la gráfica y leer el valor del mercurio a partir de la curva estándar.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

e. XILENO – 6200 B (VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS; PURGE AND TRAP CAPILLARY-COLUMN GAS CHROMATOGRAPHIC/MASS SPECTROMETRIC - STANDARD METHODS)

El xileno es una sustancia química, que se utiliza principalmente como disolvente en la impresión, el caucho y las industrias de cuero. Junto con otros disolventes, xileno también se usa ampliamente como agente de limpieza, un diluyente para pintura, y en barnices. El xileno es usado, en menor medida, como materia en las industrias químicas, plásticos y fibras sintéticas, y como ingrediente en el revestimiento de telas y papeles. Los isómeros de xileno se utilizan en la fabricación de ciertos polímeros (compuestos químicos), tales como los plásticos. El xileno se encuentra en pequeñas cantidades en el combustible de avión y la gasolina.

El xileno es un líquido y puede filtrarse al suelo, aguas superficiales (riachuelos, arroyos, ríos) o al agua subterránea. El xileno puede entrar al ambiente cuando se manufactura, envasa, transporta o usa. La mayoría del xileno que se libera accidentalmente se evapora al aire, aunque cierta cantidad se filtra a ríos o lagos. Cantidades grandes de xileno también pueden entrar al suelo, al agua o al aire como consecuencia de derrames accidentales o de escapes que ocurren cuando se almacena o entierra en un sitio de desechos.

Debido a que el xileno se evapora fácilmente, la mayor parte del xileno que entra al suelo y al agua se evapora en el aire en donde es degradado por la luz solar a otros compuestos menos perjudiciales en un par de días. Por esta razón, raramente se encuentra xileno en concentraciones altas en la superficie del suelo o en agua superficial, a menos que recientemente haya habido un derrame o que exista una fuente de contaminación continua. Todo el xileno que no se evapora rápidamente

del suelo o del agua es degradado por microorganismos. Las plantas, peces y aves incorporan solamente cantidades pequeñas de xileno.

Se propone la utilización del Método 6200 B Volatile Organic Compounds; Purge and Trap Capillary-Column Gas Chromatographic/Mass Spectrometric - Standard Methods, Edición 1998. ANEXO 3.

i. Alcance

Este método es aplicable para la determinación de una amplia gama de compuestos orgánicos purgables.

Tabla 6. Límites de detección y tiempos de retención del método

Analyte	Retention		
	Time <i>min</i>	MDL $\mu\text{g/L}$	Primary <i>m/z</i>
Ethylbenzene	14.42	0.032	91
<i>m,p</i> -Xylene	14.63	0.038	91
<i>o</i> -Xylene	15.27	0.038	91

ii. Materiales y Equipo

- Sistema de purga y trampa,
- Dispositivo para purgar compuestos, diseñado para aceptar un volumen de 25 ml con una columna de 5 cm de profundidad.
- Espectrómetro de masa, con capacidad de escanear desde 35 a 300 amu (atomic mass unit) cada 2 segundos



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Interface purga – trampa – GC/MS
- Sistema de datos, computador para la adquisición y almacenamiento de datos a partir del espectrómetro de masa
- Jeringas, 0.5; 1.0; 5 y 25 ml
- Micro jeringas, 10, 25 y 100 μ L
- Botellas de 40 ml, con tapa rosca

iii.Reactivos

- Agua reactiva
- Metil silicona
- Silica gel
- Metanol
- Ácido Clorhídrico
- Cloruro de Vinilo
- Ácido Ascórbico
- Soluciones estándar y stock

iv.Procedimiento

- Llevar la muestra a temperatura ambiente
- Remover el émbolo de la jeringa de 25 ml
- De la botella tomar muestra por medio de la jeringa (25 ml)
- Invertir la jeringa y abra la válvula
- Dejar escapar algo de aire y ajustar el volumen de la muestra a 25 ml (en duplicado si la cantidad de muestra es suficiente)



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Adicionar una cantidad apropiada de solución estándar a través de la válvula de paso
- Unir el dispositivo de purga, inyectar la muestra en el recipiente de purga
- Cerrar la válvula y purgar la muestra por 11 minutos a temperatura ambiente, mediante un caudal de 40 ml/min (helio o nitrógeno)
- Si el vapor de agua ocasiona problemas en el espectrómetro de masa, realizar una purga seca por 3 minutos
- Desorber el material atrapado en la cabeza de la columna de cromatografía a una temperatura de 180 ° C, mientras que se realiza un enjuague de la trampa durante 4 minutos con un gas inerte, iniciar el programa de temperatura GC
- Establecer el sistema de auto – drenaje de la cámara de purga, mientras que la trampa comienza el desorbe dentro del GC o se puede utilizar una jeringa para vaciar el recipiente
- Lavar la cámara con 25 ml de agua reactiva, la que es útil para realizar el análisis de muestras altamente contaminadas
- Reacondicionar la trampa por 5 a 7 minutos, dejar que la trampa de se enfríe a temperatura ambiente antes de la introducción de la próxima muestra
- Cuando todos los compuestos de la muestra han sido purificados desde la columna cromatográfica, finalizar la adquisición de datos y almacenarlos.

v. Cálculos

Calibración

$$RF = \frac{(A_s)(C_{is})}{(A_{is})(C_s)}$$



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Concentración

$$\text{Concentración } \mu\text{g} / \text{L} = \frac{A_s \times C_{is}}{A_{is} \times RF}$$

Donde:

A_s : Respuesta para el compuesto medido

A_{is} : Respuesta para el estándar interno

C_{is} : Concentración para el estándar interno

C_s : Concentración del compuesto medido



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

f. PENTAFLUOROFENOL – 6420 - B (PHENOLS, LIQUID-LIQUID EXTRACTION GAS CHROMATOGRAPHIC - STANDARD METHODS)

Los fenoles son compuestos aromáticos que contienen grupos hidroxilo ligados directamente al anillo aromático y se clasifican en monohidroxílicos, dihidroxílicos, trihidroxílicos, etc. según el número de grupos hidroxilo.

Los fenoles y sus derivados constituyen un centro relevante de atención en el estudio de la contaminación del medio ambiente y los alimentos, debido a su toxicidad y su persistencia. La Agencia de Protección Medioambiental de los Estados Unidos (USEPA) Considera once compuestos fenólicos como contaminantes prioritarios: pentaclorofenol (PCF), 2,4,6-triclorofenol (2,4,6-TCF), 2,4-diclorofenol (2,4-OCF), 2-clorofenol (2-CF), fenol (F), 4,6-dinitro-2-metilfenol (4,6-DN-2-MF), 2,4-dinitrofenol (2,4-DN F), 2-nitrofenol (2-NF), 4-nitrofenol (4-NF), 4-cloro-3-metilfenol (4-C-3-MF) y 2,4-dimetilfenol (2,4-DMF).

Los fenoles son compuestos altamente tóxicos para las especies acuáticas y que no puede ser degradado biológicamente.

Los fenoles incluyen una gran cantidad de compuestos químicos orgánicos. Están formados por un anillo aromático unido a uno, dos o varios grupos hidróxilo. Su procedencia es diversa, puede formarse a partir de diferentes procesos industriales, de los residuos orgánicos, de la degradación microbiana de los pesticidas y de forma natural. Los fenoles no pueden ser degradados biológicamente y son transportados a través de la cadena trófica. Son tóxicos para las especies acuáticas, y varias condiciones ambientales pueden aumentar su toxicidad: las



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

bajas concentraciones de oxígeno disuelto y el incremento de la salinidad y la temperatura. En concentraciones muy altas, llegan a producir olor en el agua y en la carne de los peces.

Niveles normales en aguas marinas: Se han encontrado niveles de 0,05 µg/l en agua de mar. La EPA establece un valor máximo de 1,0 µg/l para la protección de los ecosistemas acuáticos. (Ruiz Mateo *et al.*, 1994).

El transporte de los pesticidas fenólicos ocurre en fase de vapor y como partículas en suspensión; este mecanismo es el responsable de la contaminación por estas sustancias de aguas superficiales y subterráneas.

Se propone la utilización del método 6420 PHENOLS, Liquid-Liquid Extraction Gas Chromatographic - Standard Methods, 20th. ANEXO 4

Alcance

El método presentado es aplicado para la determinación de compuestos fenólicos individuales. El método 6420 B, es un método de cromatografía gaseosa (GC) utilizando una extracción Líquido - líquido y detección por ionización de llama (FID) o detección por derivatización y captura de electrón (ECD), que permite determinar una amplia variedad de fenoles en relativamente bajas concentraciones.

El nivel de detección del método (MDL), correspondiente a la mínima concentración de una sustancia que puede ser medida y reportada con un 99% de confianza, se indica en la tabla 7.

Tabla 7. Nivel de detección del método

Compound	Retention Time <i>min</i>	Method Detection Level <i>µg/L</i>
2-Chlorophenol	1.70	0.31
2-Nitrophenol	2.00	0.45
Phenol	3.01	0.14
2,4-Dimethylphenol	4.03	0.32
2,4-Dichlorophenol	4.30	0.39
2,4,6-Trichlorophenol	6.05	0.64
4-Chloro-3-methylphenol	7.50	0.36
2,4-Dinitrophenol	10.00	13.0
2-Methyl-4,6-dinitrophenol	10.24	16.0
Pentachlorophenol	12.42	7.4
4-Nitrophenol	24.25	2.8

Equipo y Material

- Columnas cromatográficas, 100 mm de longitud
- Matraz reactivo, 15 a 25 ml
- Cromatógrafo de gases
- Columna para fenoles derivatizados
- Detectores, ionización de llama (FID) y captura de electrones (ECD)

Reactivos

- Solución de hidróxido de sodio NaOH, 1N: Disolver 4 g de NaOH en agua reactiva y diluir a 100 ml
- Ácido Sulfúrico H₂SO₄, 1N; lentamente adicionar 58 ml de H₂SO₄ concentrado a 500 ml de agua reactiva y diluir a 1 L
- Carbonato de potasio K₂CO₃ en polvo



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Bromuro de Pentafluorobenzil
- Reactivo derivatización
- Acetona, hexano, metanol, cloruro de metileno, 2- propanol, tolueno
- Silica gel
- Soluciones stock y estándar

Toma de muestra almacenamiento y preservación

Para la recolección y almacenamiento de las muestras de agua se utilizan botellas de vidrio ámbar de 2.5 L con tapón de rosca recubierto de teflón. Para las muestras sólidas se emplean recipientes de plástico de diversos tamaños.

Normalmente, las muestras de agua se procesan inmediatamente después de su recogida y preparación. Si esto no fuese posible, se conservan en nevera a 4 °C en ausencia de luz por un período máximo de una semana.

Procedimiento

Extracción

- Colocar la muestra completa en un embudo de separación. Para muestras con alto contenido orgánico la muestra debe ser lavada con un solvente en un pH básico, para remover las potenciales interferencias
- Antes de la extracción, se debe ajustar el pH de 1 a 2 con ácido sulfúrico. Extraer 3 veces con cloruro de metileno
- Ensamblar el aparato (Kuderna- danish), y concentrar el extracto a 1 ml, drenar y enfriar
- Incrementar la temperatura del baño caliente. Remover la columna Snyder y enjuagar con 1 o 2 ml de 2 – propanol



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Ajustar el volumen del extracto a 1 ml, tapar el tubo concentrador y almacenar a 4°C si el proceso no se lleve a cabo inmediatamente
- Si la muestra no requiere una limpieza o extracción más profunda se procede con el análisis cromatográfico.

Cromatografía de gases – ionización de llama

- Si se utiliza el procedimiento de calibración estándar, adicionar este al extracto de muestra y mezclar antes de inyectar 2 a 5 µL de muestra
- Identificar componentes en la muestra comparando los peak de los tiempos de retención con los peak de los estándar

Derivatización

- Pipetear 1 ml de solución 2- propanol de muestra o estándar en un vial de reacción de vidrio
- Adicionar 1 ml de reactivo de derivatización, adicionar 3 mg de K_2CO_3 y agitar suavemente
- Calentar por 4 horas a 80 °C, en un baño de agua caliente
- Remover del baño y dejar enfriar
- Adicionar 10 ml de hexano y agitar fuertemente por un minuto
- Adicionar 3 ml de agua destilada y agitar por 2 minutos
- Decantar una porción de la capa orgánica en un concentrador de tubo y tapar con un tapón de vidrio
- Análisis de la muestra: inyectar 2 a 5 µL en el cromatógrafo de gases utilizando la técnica de “enjuague con solvente”
- Pequeños volúmenes (1 µL) pueden ser inyectados si se utilizan dispositivos automáticos
- Registrar el volumen inyectado más cercano a 0.05 µL y los peak resultantes
- Si el peak resultante excede el rango lineal, diluir el extracto y re analizar



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Cálculos

Análisis FID/GC

Determinar la concentración de compuestos individuales. Si se utiliza el procedimiento de calibración estándar se debe calcular la cantidad de material inyectado a partir de la respuesta peak, utilizando la curva de calibración.

Calcular la concentración de la muestra como se indica a continuación:

$$\text{Concentración, } \mu\text{g / l} = \frac{(A)(V_t)}{(V_i)(V_s)}$$

Donde:

A: Cantidad de material inyectado (ng)

V_i: Volumen de extracto inyectado (μL)

V_t: Volumen total del extracto (μL)

V_s: Volumen de agua extraída (mL)

Si se utiliza el procedimiento de calibración interno de estándar, el cálculo de la concentración de la muestra utilizando el factor de respuesta (RF).

$$\text{Concentración, } \mu\text{g / l} = \frac{(A_s)(I_s)}{(AI_s)(RF)(V_o)}$$



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Donde:

A_s : Respuesta del componente a ser medido

A_{is} : Respuesta del estándar interno

I_s : Cantidad de estándar interno adicionado a cada extracto (μg)

V_o : Volumen de agua extraída

Derivatización y análisis ECD/GC

Para determinar la concentración de componentes individuales en la muestra, utilizar la siguiente ecuación:

$$\text{Concentración, } \mu\text{g/l} = \frac{(A)(V_t)(B)(D)}{(V_i)(V_s)(C)(E)}$$

Donde:

A: Masa de fenol representada por el área o peak de la muestra, determinada por medio de la curva de calibración.

V_i : Volumen del eluido inyectado (μL)

V_t : Volumen total del eluido de la columna o de fracciones combinadas

V_s : Volumen de agua extraída (ml)

B: Volumen total de hexano adicionado (ml)

C: Volumen de solución de hexano adicionada para limpiar la columna (ml)

D: Volumen total de 2-propanol extraído antes de la derivatización (ml)



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO
PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

E: Volumen de extracto 2-propanol utilizado a través de la derivatización (ml)

Reportar resultados en $\mu\text{g/l}$.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

g. DDT – EPA, 1980

La aplicación a gran escala de pesticidas en áreas agrícolas contribuye a la presencia de estas sustancias tóxicas en la superficie terrestre y finalmente en suplementos de agua. El transporte de las mismas desde sus fuentes hasta cuerpos de agua, puede efectuarse por drenaje de terrenos aledaños, precipitación atmosférica, derrames accidentales en un área o por un sistema de distribución.

Para su determinación se aplica la cromatografía de gases. En este proceso estas sustancias son extraídas con una mezcla de solvente, dietileter/hexano o metilencloruro/hexano. El extracto es concentrado por evaporación y si es necesario, limpiado por columna de absorción. Posteriormente, puede realizarse el análisis cromatográfico propiamente dicho.

El sistema de detección para la determinación cromatográfica de este tipo de sustancias es un detector de captura de electrones (ECD). Sin embargo, algunas sustancias diferentes a éstas producen señales o causan envenenamiento del mismo, por lo cual, se recomienda su eliminación de la muestra antes de analizar. Para tal fin, se aplican técnicas de limpieza como el uso de columnas de silicato de magnesio (Florisil) y procesos de separación. Usualmente las aguas potables no requieren el tratamiento de limpieza.

Algunos pesticidas son sustancias muy inestables, por tal razón la validez de los resultados analíticos depende del muestreo y del manejo de la muestra. El método aquí descrito se fundamenta en extracción sucesiva de la muestra con mezclas de éter-hexano. El extracto obtenido se concentra y se pasa por una columna empacada con florisil para ser fraccionado mediante la elución con éter hexano en



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

diferentes proporciones. Los extractos son luego concentrados y analizados por cromatografía de gases usando detector ECD.

Se propone la aplicación del método de determinación por cromatografía de gases, detallado en EPA, 1980. ANEXO 6.

Alcance y aplicación

Este método es aplicable a todo tipo de aguas naturales, efluentes industriales y domésticos.

El rango óptimo de trabajo es 10^{-9} - 10^{-12} g, dado por la linealidad del detector. La mínima concentración que puede ser detectada es de 10^{-12} g y los siguientes compuestos pueden determinarse por este método: Clordano, α -BHC, β -BHC, Lindano, Heptacloro, Epóxido, p,p, - DDE, o,p, - DDE, Dieldrin, Endrin, p,p'-DDD, o,p'-DDD, p,p'-DDT, y o,p'-DDT.

Toma de muestra, almacenamiento y preservación

Las botellas de muestreo, y todo el material de vidrio empleado en el análisis deben ser lavados con agua y detergente, enjuagado con metanol seguido por n-Hexano, luego secado en un horno a 250°C. Todo el material de vidrio debe ser almacenado en cabinas libres de polvo y cubierto con papel aluminio hasta su uso. Es necesario remover todo residuo orgánico del material manteniéndolo por lo menos dos horas en solución sulfocrómica.

Precaución: Se debe tener mucho cuidado para evitar contacto con la piel o inhalación del ácido sulfocrómico.

Las muestras de agua a diversas profundidades son colectadas en botellas Nansen o Niskin y almacenadas en botella de 1 litro de capacidad. En aguas "limpias" es preciso tomar una mayor cantidad. Cuando las muestras son superficiales pueden



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

ser tomadas directamente en la botella de vidrio a unos 25 cm por debajo de la superficie, para evitar la adhesión de películas de aceite o materiales extraños.

Máximo dos horas después de haber sido tomadas deben ser llevadas al laboratorio y analizadas.

Si el análisis no se realiza inmediatamente, las muestras deben ser refrigeradas entre 2 a 4°C, sin que pasen más de 15 días para el análisis es de organoclorados, o siete, para el análisis de organofosforados. Es conveniente agregarles el solvente de extracción.

Materiales y equipos

- Cromatógrafo de gases equipado con Detector de Captura Electrónica (ECD)
- Rotavaporador
- Concentrador Kuderna Danish
- Balanza con precisión +/- 0.00001 g
- Horno para secado
- Sistema de vacío
- Beakers de 100, 150, 200 y 1000 ml
- Probeta graduadas de 50, 100 y 250 ml
- Erlenmeyers de 125 y 250 ml
- Tubos de centrifuga de 50 ml
- Columnas de vidrio de 25 cm de largo x 1 cm de diámetro interno con llave de Teflón
- Embudos de separación de 2 L
- Pipetas Pasteur
- Pipetas volumétricas de 1, 2, 5, y 10 ml
- Matraz aforado de 25, 50 y 100 ml
- Pinzas y espátulas de acero inoxidable



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Micro-jeringas de 10 μ l
- Desecadores
- Viales de 2 ml con tapa rosca de teflón.

Reactivos

- Gas nitrógeno (N₂) grado 4.5
- n-Hexano calidad pesticida
- n-Decano
- Éter etílico
- Acetona
- Metanol calidad pesticida
- Florisil P.R, 60 - 100 Mesh
- Acido sulfúrico concentrado, libre de hidrocarburos clorados (HC)
- Sulfato de sodio anhidro
- Dicromato de potasio
- Estándares puros de pesticidas (hidrocarburos clorados): alfa-hexaclorociclohexano (α -BHC), β -BHC, γ -BHC o Lindano, Aldrín, p,p' - Diclorodifenildicloroetano (DDD), p,p'-Diclorodifenil-dicloroetileno (DDE), p,p'-Diclorodifeniltricloroetano (DDT), Dieldrin, entre otros, todos de 100 ng/ μ l.

Las soluciones de trabajo son preparadas por diluciones sucesivas con solvente.

Precaución: Los compuestos estándares son altamente tóxicos y deben ser manejados con extremo cuidado para evitar contacto con la piel o inhalación.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOSCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Procedimiento

i.Extracción

- Depositar la muestra en un embudo de separación de 2 L; la extracción también se puede realizar en la misma botella de la muestra
- Adicionar 75 ml de éter al 15% en hexano y agitar vigorosamente durante 2 minutos
- Dejar en reposo para separar las dos fases
- Transferir la fase orgánica a un erlenmeyer conteniendo 0.5 – 1.0 g de Na_2SO_4 anhidro; si la extracción se realiza en la misma botella, utilizar una pipeta de 25 ml para transferir la fase orgánica o extracto
- Tapar el erlenmeyer con papel aluminio
- Adicionar al embudo de separación 50 ml de éter al 6 % en hexano, agitar durante 2 min. Y repetir el paso anterior reuniendo el extracto con el anterior en el mismo erlenmeyer
- Si se desea determinar PCBs en la muestra, adicionar a la misma en el embudo de separación 50 ml de hexano puro, agitar por 2 min y repetir el segundo paso depositándolo en un erlenmeyer aparte. Los PCBs intervienen severamente en la cromatografía de los plaguicidas organoclorados
- Agitar la mezcla de los dos extractos y concentrar en rotavapor al vacío hasta un volumen de 2 ml aproximadamente.

ii.Preparación de la columna de Florisil

- La cromatografía de columna se prepara empleando una columna de vidrio de 25 cm de alto y de 1.0 cm de diámetro interno
- Enjuagar con acetona las columnas para fraccionar y colocarlas en la estufa a 110 °C



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Fijar una pieza de lana de vidrio en el extremo inferior para retener el adsorbente
- Mezclar 16 g de Florisil con 30 o 40 ml de nhexano los cuales son vertidos a la columna
- Adicionar 1.0 cm de sulfato de sodio sobre el nivel de Florisil, para evitar disturbios en la primera capa cuando los solventes son vertidos a la columna
- Eluir 50 ml de n-hexano como lavado

iii. Purificación en columna de Florisil

- Concentrar el extracto en Kuderna Danish o baño María hasta 0.5 ml
- Percolar el extracto en una columna de Florisil
- Eluir con 200 ml de éter en hexano al 6%
- Eluir con 200 ml de éter en hexano al 15%
- Reunir los dos eluidos anteriores en un erlenmeyer de 100 ml.
- Eluir con 200 ml de éter en hexano al 50%.
- Recibir en otro erlenmeyer
- Colocar alambre de cobre o mercurio metálico para la desulfuración, hasta que no se aprecie la precipitación de los sulfuros sobre el metal.
- Concentrar en rotavapor hasta 2 ml
- Almacenar el extracto en un vial de vidrio de 5 ml para su análisis final por cromatografía de gases

iv. Purificación con ácido sulfúrico concentrado

- Concentrar el extracto en baño María hasta 0.5 ml
- Transvasar el extracto a un tubo de 10 ml con tapa rosca
- Adicionar 1 ml de H₂SO₄ concentrado, agitar vigorosamente por 30 segundos



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Dejar en reposo hasta la separación de las fases
- Enjuagar con 20 ml de n-hexano
- Retirar con una pipeta Pasteur la fase ácida. Repetir el proceso hasta que la fase orgánica sea clara y completamente translúcida
- Lavar el extracto con agua des-ionizada, agitar y retirar la fase acuosa
- Adicionar suficiente cobre o mercurio metálico para desulfurar el extracto
- Adicionar 0.5 g de Na₂SO₄ anhidro para secar el extracto
- Almacenar el extracto en un vial de vidrio de 5 ml para su análisis final por cromatografía de gases
- Si el análisis cromatográfico no se realiza inmediatamente, mantener refrigerados los extractos a +/- 2 °C y protegidos de la luz

v. Cuantificación

La cuantificación de cada pesticida se realiza a través de un análisis por cromatografía de gases, los extractos secos de las muestras, se reconstituyen con 25 - 100 µl de n-Decano (nC₁₀), y se inyecta 0.5 µl en el cromatógrafo de gases con detector ECD.

vi. Calibración o Ajuste

Ajustar el cromatógrafo para obtener su máxima sensibilidad; ayuda mucho tener en cuenta las especificaciones del fabricante. Esto se consigue, adecuando los flujos de nitrógeno para una mayor sensibilidad, se deben establecer los flujos de make-up y de arrastre en la columna. Si el equipo posee un sistema split, también se debe definir el tiempo durante el cual permanece abierta la válvula y las razones de flujo de la purga y el split.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Diariamente, antes de iniciar el análisis de las muestras, se debe hacer el background del equipo y correr un cromatograma en blanco o línea base, únicamente solvente (n-C10), y otro con una mezcla de referencia de plaguicidas. Esto con el objeto de evaluar la señal del instrumento antes de cualquier medida y también conocer los tiempos de retención (tR) de los compuestos de referencia de la mezcla a las condiciones de funcionamiento del equipo.

La identificación y cuantificación individual de cada hidrocarburo clorado requiere de la elaboración de curvas de calibración para cada compuesto. Es necesaria la preparación de soluciones de cada uno de ellos a concentraciones que estén dentro del rango lineal del detector, estas soluciones de patrones individuales se inyectan para determinar los tiempos de retención de cada compuesto.

Stock primario: Preparar una solución que contenga todo los compuestos de interés. Esta solución será el stock primario y contendrá una concentración “relativamente alta” de cada compuesto. Una solución con 100 ng/μl de cada compuesto es suficiente (pesar 5 mg de cada organoclorado y llevar a 50 ml en balón aforado con hexano).

Comercialmente también se consiguen mezclas de varios pesticidas, con concentraciones certificadas; su empleo puede ahorrar mucho tiempo y mejorar la precisión de las curvas.

A partir del stock primario se preparan soluciones de menor concentración (que estén dentro del rango lineal de respuesta del detector), tantas como puntos de calibración vayan a tener las curvas. (Se puede trabajar elaborando mezclas que estén entre el rango de 10 – 300 pg/μl en concentración para cada compuesto). Estas soluciones que van a ser inyectadas al cromatógrafo deben utilizar nC10 como solvente.

Con los reportes del equipo emplear una regresión lineal para determine la pendiente (m) y el intercepto (b) de la curva de calibración para el compuesto i.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

$$(Y = mX + b)$$

$$\text{Área} = C_i \times m + b$$

Y = Área = Área del pico reportado por el cromatograma

X = C_i = Concentración del compuesto i en el extracto (pg/ μ l)

b = Intercepto

vii. Cálculos

Identificados los picos del cromatograma, con las áreas reportadas se procede a calcular la concentración del compuesto i en el extracto, de la siguiente forma:

$$C_i = \frac{\text{Área} - b}{m}$$

Y = Área = Área del pico reportado por el cromatograma

X = C_i = Concentración de la sustancia i en el extracto (pg/ μ l)

b = Intercepto

m = Pendiente de la curva de regresión

La concentración de la sustancia i en la muestra sería:

$$ng/l = \frac{C_i \times V_e \times 0.001}{V}$$



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

C_i = Concentración de la sustancia i en el extracto de muestra (pg/ μ l)

V_e = Volumen final del extracto (25 μ l)

V = Volumen de muestra sometida a análisis (L)

viii. Recomendaciones

Algunas consideraciones que se deben tener con las mezclas de referencias son:

- No debe haber ningún compuesto presente con una concentración, que esté por fuera del rango de linealidad del detector de captura de electrones
- Se debe usar una balanza de alta precisión y papel aluminio como pesa sustancias, suficientemente seco y limpio
- Al pesar los estándares se debe tener en cuenta su pureza, la cual viene certificada; y al final se realizarán las correcciones pertinentes con dicho valor
- Se debe tener cuidado en la disolución y trasvasado de los estándares primarios, puesto que cualquier pérdida ocasiona grandes errores. Todo material de vidrio a utilizar, debe enjugarse con los solventes y secarse perfectamente.
- Las mezclas estándares se pueden transvasar del matraz volumétrico a recipientes de vidrio adecuados para su almacenamiento
- Las mezclas estándar deben guardarse refrigeradas y perfectamente selladas
- Las mezclas no pueden pasar un periodo máximo de seis meses y los estándares stock concentrados máximo 9 meses.

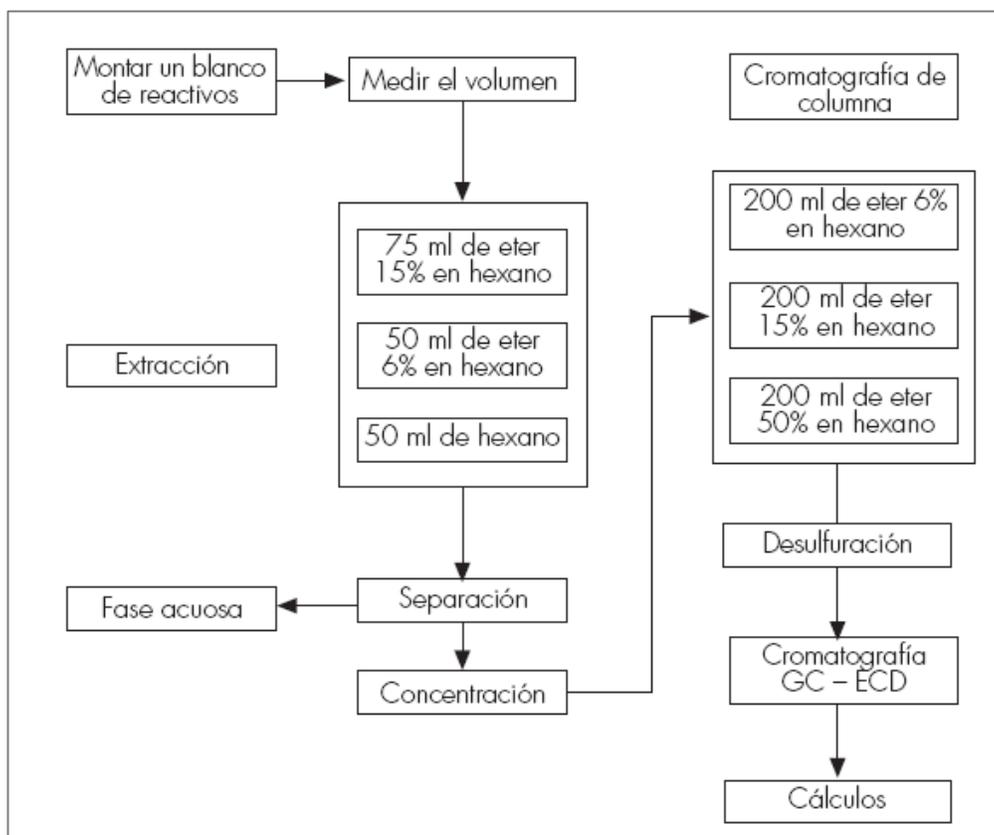


Figura 18. Diagrama de flujo, pasos para llevar a cabo el análisis de DDT en agua.

Fuente: INVEMAR, 2003



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOSCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

7.2 SEDIMENTOS

a. POTENCIAL REDOX – RESOLUCIÓN 404/2003 (MINISTERIO DE ECONOMÍA FOMENTO Y RECONSTRUCCIÓN - SUBSECRETARÍA DE PESCA)

El potencial redox es una medida de la actividad de los electrones. Está relacionado con el pH y con el contenido de oxígeno. Es análogo al pH ya que el pH mide la actividad de protones y el potencial redox mide la de los electrones.

El potencial redox se calcula como:

$$Eh = 1,234 - 0,058 \text{ pH} + 0,0145 \log(10) P_o$$

Siendo P_o la presión parcial de oxígeno expresada en atmósferas.

En las aguas si el oxígeno está en equilibrio con el atmosférico y el pH es de 7, el valor es de + 0, 86 mV a 0 °C y de + 0,80 mV a 25 °C. En las aguas dulces y marinas raramente baja de + 0,3 mV excepto cuando hay gran escasez de oxígeno.

En un perfil de sedimentos marinos es posible apreciar tres zonas distinguibles: la zona oxidada, correspondiente a la capa superficial y cuyo potencial redox suele estar por sobre de de 200 mV, la siguiente capa más profunda puede mostrar una discontinuidad del potencial redox con un cambio de color (gris) con valores de potencial redox, entre 0 y 200 mV, y una zona más profunda con presencia de procesos reductivos, la cual puede presentar valores de potencial redox negativo.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

En éstas capas el oxígeno, dióxido de carbono y nitrato son reemplazados por el sulfuro de hidrógeno, metano y amoníaco en los sedimentos reducidos (Figura 19). El ión férrico pasa a ión ferroso en la discontinuidad de redox y en la zona reducida.

Cambios en el potencial redox generan, a su vez, cambios en el estado redox de varios nutrientes esenciales. La solubilidad de muchos micronutrientes esenciales como el hierro (Fe) y el manganeso (Mn) es afectada por el estado redox de la molécula (Figura 20).

Cuando el potencial redox es alto, hierro y manganeso existen en forma trivalente y tetravalente respectivamente (Fe^{3+} ; Mn^{4+}). Estas formas ionizadas son insolubles y no accesibles para el consumo microbiano. Las formas bivalentes de estos metales (Fe^{2+} y Mn^{2+}) se generan a potenciales bajos, son solubles en agua y fáciles de incorporar por los microorganismos. Las reacciones redox favorecen la disolución de algunas especies químicas (ej. $\text{Fe}(\text{OH})_3 \rightarrow \text{Fe}^{2+}$) y la inmovilización o escape de otras (ej. $\text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{FeS}$; $\text{CO}_2 \rightarrow \text{CH}_4$).

Generalmente, el potencial redox es afectado por la concentración de oxígeno disuelto. Según baja el potencial redox en aguas y sedimentos, se observa una disminución en la concentración de oxígeno disuelto y la reducción de iones y moléculas importantes para la nutrición de microorganismos y formas de vida superior (Tabla 8). Dicha relación es particularmente observada en ambientes acuáticos eutróficos, en cuerpos de agua con una estratificación termal marcada y en cuerpos de agua contaminados con altas concentraciones de materia orgánica oxidable. Ambientes de agua dulce en equilibrio con el oxígeno atmosférico, tienen valores Eh alrededor de +800 mV (0.8V), mientras que el potencial redox para aguas oceánicas superficiales generalmente oscila entre +400 y +435 mV (a un pH



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

entre 7.6 y 8.3). Cuando la tensión de oxígeno en dichos ambientes disminuye, el potencial redox también baja.

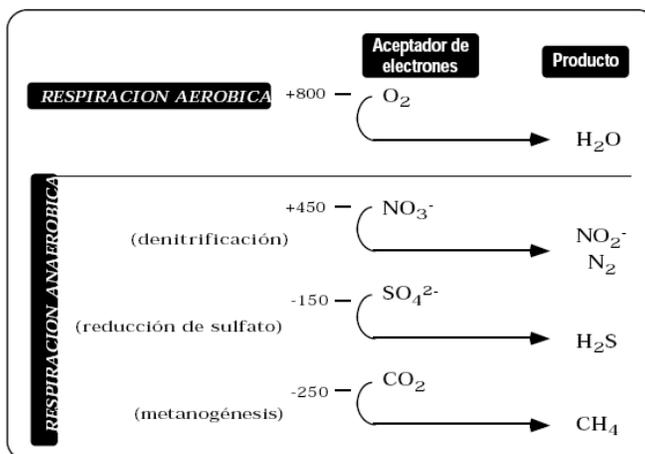


Figura 19. Perfil vertical de potencial redox en sedimentos

Fuente: Lynch y Poole, 1979

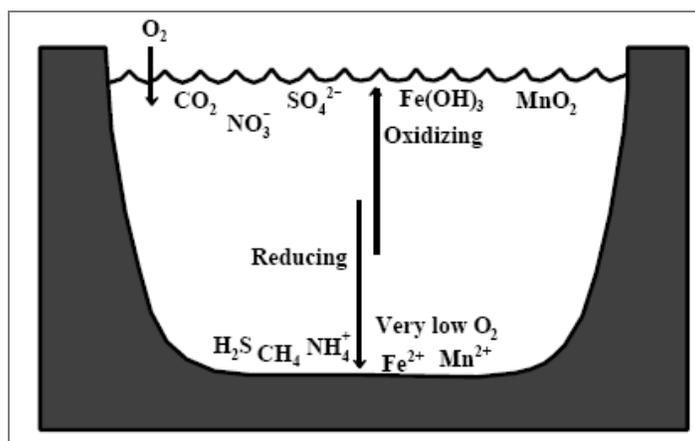


Figura 20. Predominancia de especies químicas

Fuente: Manahan, 2000



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Tabla 8. Relación entre oxígeno y la reducción de iones

Parejas Redox	Eh7 (milivoltios)*	Oxígeno Disuelto (mg/L)
NO ₃ ⁻ - NO ₂ ⁻	+450 a +400	4.0
NO ₂ ⁻ - NH ₃	+400 a +350	0.4
Fe ³⁺ - Fe ²⁺	+300 a +200	0.1
SO ₄ ²⁻ - S ²⁻	-150 a -200	0.0
CO ₂ - CH ₄	-250 a -300	0.0



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Procedimiento

El potencial redox debe medirse de manera inmediata una vez que se haya realizado la toma de la muestra de sedimento, esto principalmente debido a la naturaleza inestable de este parámetro. El potencial redox puede ser medido usando un electrodo de platino en combinación con un pH/milivolt. ANEXO 8.

- El electrodo debe ser calibrado previamente a su uso, con una solución de ferrocianuro de potasio y ferricianuro de potasio, indicadas en las instrucciones del fabricante (Figura 21, a)
- El electrodo debe ser insertado directamente en la muestra de sedimento a una profundidad aproximada de 2 centímetros (Figura 21, b).
- Registrar el valor medido una vez que la lectura del electrodo se haya estabilizado, (medido en mV).

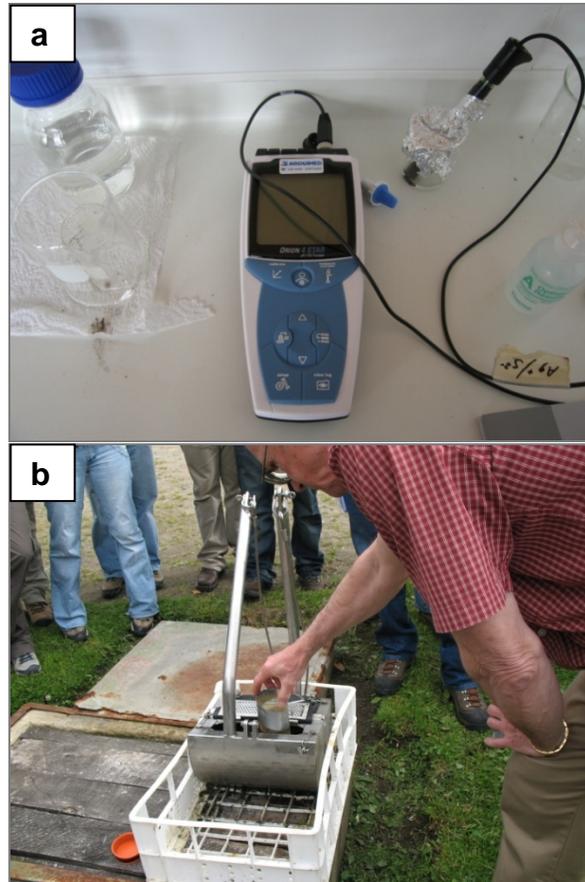


Figura 21. a. Calibración para la medición de potencial redox; b. Medición de potencial redox dentro de draga.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

b. OXÍGENO DISUELTO – 4500 – O B

El oxígeno (O_2) procedente de la atmósfera se disuelve directamente en las aguas superficiales, o se genera mediante la fotosíntesis en las capas superiores iluminadas. Con el aumento de la profundidad, el O_2 disminuye, en parte, al ser consumido por la respiración de microorganismos y de otro lado, por la descomposición microbiana de los detritos orgánicos y por el fenómeno de absorción (Figura 22).

La concentración de oxígeno disuelto es altamente dependiente de la temperatura, salinidad, actividad biológica (actividad microbiana y producción primaria) y de la tasa de transferencia desde la atmósfera.

Bajo condiciones naturales, el oxígeno disuelto puede variar considerablemente de manera diaria (o diurna) en sistemas altamente productivos (humedales, lagos y estuarios), a la vez puede verse severamente reducida su concentración en sistemas con una fuerte estratificación de sus capas.

La concentración de oxígeno disuelto en la interfase agua-sedimento es particularmente importante ya que es uno de los principales factores que controla el flujo de nutrientes, metales pesados y otros componentes desde los sedimentos a la columna de agua (Forstner y Wittmann, 1981, Forstner y Salomons, 1991, Salomons y Forstner, 1984, 1988, En: ANZECC, 2000). De ahí la importancia de mantener sistemas con condiciones de aerobiosis, tanto para la salud de los organismos acuáticos como para reducir la liberación de componentes tóxicos.

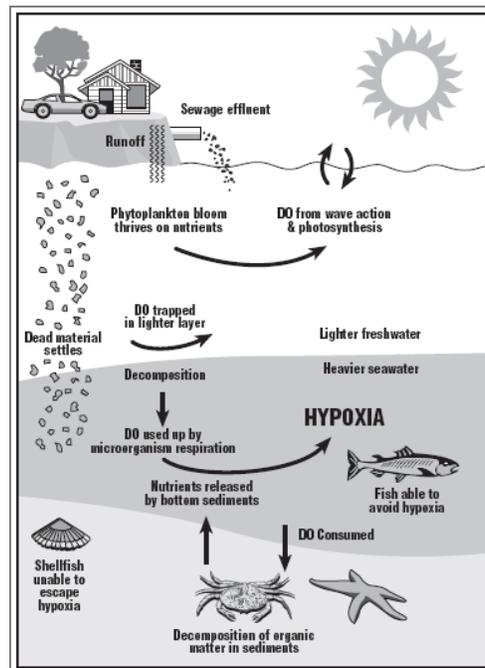


Figura 22. Procesos químicos, físicos y biológicos que afectan las concentraciones de oxígeno disuelto.

Fuente: USEPA, 1998



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

La vida, el crecimiento de microorganismos y el desarrollo de sus actividades metabólicas específicas, dependen de la disponibilidad de oxígeno molecular. Algunos procesos tienen lugar solamente bajo condiciones aerobias, otros en cambio, son estrictamente anaerobios.

La hipoxia (niveles bajos de oxígeno disuelto), puede eliminar a especies sensibles, causando un importante cambio en la composición de las comunidades benthicas, comunidades de peces y fitoplancton. Bajo condiciones de hipoxia, existe una tendencia general a que organismos filtradores sean reemplazados por organismos carroñeros; peces demersales sean reemplazados por peces pelágicos; y el macrobentos por el meiobentos. En estas condiciones de hipoxia la comunidad fitoplanctónica puede verse dominada por especies de microflagelados y nanoplancton (Wu, 2002) (Figura 23).

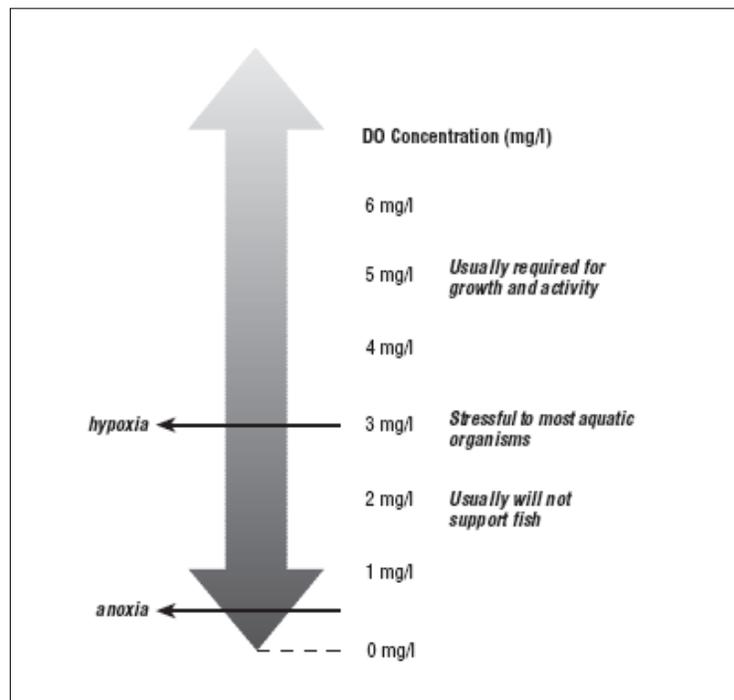


Figura 23. Niveles de oxígeno disuelto para la vida de organismos marinos.

Fuente: USEPA, 2006



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

La evaluación del oxígeno disuelto (OD) en todo sistema de agua natural, es de importancia fundamental para conocer la distribución de organismos en los océanos, para los estudios de descomposición de materia orgánica y para la de productividad de los mismos.

En éste capítulo, se proponen la medición del contenido de oxígeno disuelto en sedimentos en la interfase agua-sedimento por medio de la aplicación del método Winkler. ANEXO 9.

Método Winkler interfase agua – sedimento:

El Método Volumétrico de Winkler (1888) revisado por Carpenter (1966), sigue siendo el de más utilización por parte de la comunidad de laboratorios debido a su sensibilidad, precisión y relativa sencillez. Una muestra de agua se hace reaccionar con una solución de iones manganosos y una solución yoduro-alcalina, la cual lleva incorporado azida de sodio cuya función es la de eliminar interferencias debidas a iones oxidantes como nitritos y materia orgánica presente; al mismo tiempo que se le protege del aire para evitar la oxigenación.

Alcance y aplicación

El método es aplicable a todo tipo de aguas naturales, residuales domésticas e industriales, con especial referencia al agua de mar. La exactitud global del Método Winkler es determinada por la estequiometría de la secuencia de reacciones, así como por las exactitudes de cada uno de los tratamientos y manipulaciones de las muestras. Así mismo, la calibración de los aparatos volumétricos utilizados es



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

esencial para alcanzar una alta exactitud, existen buretas digitales que proporcionan ± 0.01 ml de precisión.

La precisión del método, numéricamente expresada por la desviación estándar es de ± 0.02 mg/l para mediciones hechas sobre agua destilada; y cerca de ± 0.06 mg/l en muestras de aguas de desecho y efluentes residuales (APHA, 1998).

Toma de muestra, almacenamiento y preservación

La muestra para determinación de oxígeno disuelto debe ser tomada de la botella muestreadora antes que cualquier otra, usando una manguera de caucho y evitando introducir burbujas de aire. La botella Winkler en la cual se colecta, debe enjuagarse por lo menos dos veces con la misma agua.

La muestra se trasvasa lentamente, introduciendo la manguera de caucho hasta el fondo de la botella. Luego la manguera se saca lentamente.

Cuando se trata de muestras de superficie tomadas con un balde, se sumerge la botella Winkler en el balde sosteniéndola en forma oblicua, dejando que el agua escurra suavemente por las paredes y evitando las turbulencias.

En forma rápida se agregan primero 2 ml de solución de sulfato de manganeso, colocando la punta del dosificador o pipeta bajo la superficie, de modo que la salida del reactivo se ubique cerca de la base del cuello de la botella, luego 2 ml de solución yoduro-alcalina. Al agregar el segundo reactivo a la muestra, la punta del dosificador o pipeta no debe introducirse en el líquido, sino justo sobre la superficie cerca del borde del matraz, para evitar contaminación con ion manganeso.

Si esta contaminación ocurriera, el manganeso (II) transferido a la botella de yoduro alcalino determinaría la formación de precipitado que obligaría a desechar el reactivo. Posteriormente se tapa y se agita fuertemente.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Las muestras se almacenan en un lugar fresco y preferiblemente oscuro, procediéndose a su traslado al laboratorio para el análisis respectivo, el cual debe realizarse en un tiempo no mayor de 12 horas. Si se emplean matraces con un embudo, que permiten un sello de agua entorno al tapón, tomando además las precauciones mencionadas, se pueden almacenar por varios días (Riley, 1975).

Materiales y Equipo

- Bureta electrónica o digital
- Botellas Winkler de 300 ml
- Erlenmeyers de 125 ml
- Pipetas aforadas de 1, 2 y 10 ml
- Balones aforados de 50, 100, 250, 500 y 1000 ml
- Beaker de 1000 ml
- Mangueras de caucho
- Balde plástico de 10 l
- Balanza analítica (+/- 0.0001g)

Reactivos

Sulfato de manganeso ($MnSO_4$): Disolver 182.5 g de sulfato de manganeso en agua destilada y completar a 500 ml.

Solución yoduro-alcalina: Disolver 125.0 g de hidróxido de sodio (NaOH) en 125 ml de agua destilada. Disolver 75.0 g de yoduro de potasio (KI) en 100 ml de agua destilada. Una vez frías, mezclar las dos soluciones y agregarle 2.5 g de azida de sodio disuelta en 10 ml de agua destilada, completar a 500 ml.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Acido sulfúrico (70%): Mezclar 350 ml de ácido sulfúrico concentrado con 150 ml de agua destilada.

Solución de almidón 3%: Disolver 3.0 g de almidón soluble en 100 ml de glicerina, calentar hasta disolución total.

Tiosulfato de sodio 1N (Na₂S₂O₃·5H₂O): Disolver 62.045 g tiosulfato de sodio en agua destilada, previamente hervida y completar 250 ml. Agregarle 0.5 ml de disulfuro de carbono (CS₂) como preservativo.

A partir de ésta se prepara la de 0.01 N. Guardar en botella ámbar.

Solución estándar de yodato de potasio 0.01 N (KIO₃): Pesar exactamente 0.3567 g de yodato de potasio, previamente secado, disolver en agua destilada y completar a 1.0 L en un matraz aforado

Procedimiento

- Fijar el oxígeno de la muestra con 2 ml de solución de sulfato de manganeso, y luego 2 ml de solución yoduro-alcalina, agitar fuertemente y dejar en reposo por 15 minutos
- Agitar fuertemente y adicionar 2 ml de solución de ácido sulfúrico, mezclar hasta la disolución del precipitado. Dejar en reposo por 10 minutos, manteniendo la botella en la oscuridad.
- Tomar alícuotas de 50 ml por duplicado. Titular con solución de tiosulfato 0.01N hasta obtener color amarillo pálido. Adicionar dos gotas de solución de



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO
PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

almidón. Seguir titulando hasta desaparición del color azul. Anotar los volúmenes de tiosulfato y promediar

Calibración o Ajuste

- Pipetear 2 alícuotas de 10 ml de yodato de potasio 0.01N en erlenmeyers de 125 ml
- Adicionar 40 ml de agua destilada a cada uno y agitar
- Adicionar 2 ml de solución de ácido sulfúrico y agitar
- Adicionar 2 ml de solución yoduro-alcalina y agitar
- Dejar en reposo por 15 minutos
- Titular con tiosulfato 0.01N, anotar los volúmenes y obtener el promedio de ellos (V_2)
- Determinar la verdadera normalidad del tiosulfato por:

$$N_t = \frac{10 \text{ ml} \times N_{KIO_3}}{V_2}$$

N_{KIO_3} = Normalidad del yodato de potasio (0.01 N)

Cálculos

La concentración de oxígeno disuelto en las muestras, puede calcularse a partir de la ecuación:



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

$$mg OD/l = \frac{800 \times (V_1) \times V \times (V_t)}{(V - 4) \times V_m}$$

Donde:

V = Volumen del frasco (300 ml)

V1 = Volumen de tiosulfato 0.01N gastado para titular la muestra

Vm = Volumen de la alícuota tomada (50 ml)

Nt = Normalidad del tiosulfato de sodio

V -4 = Volumen corregido, teniendo en cuenta la adición de los dos primeros reactivos.

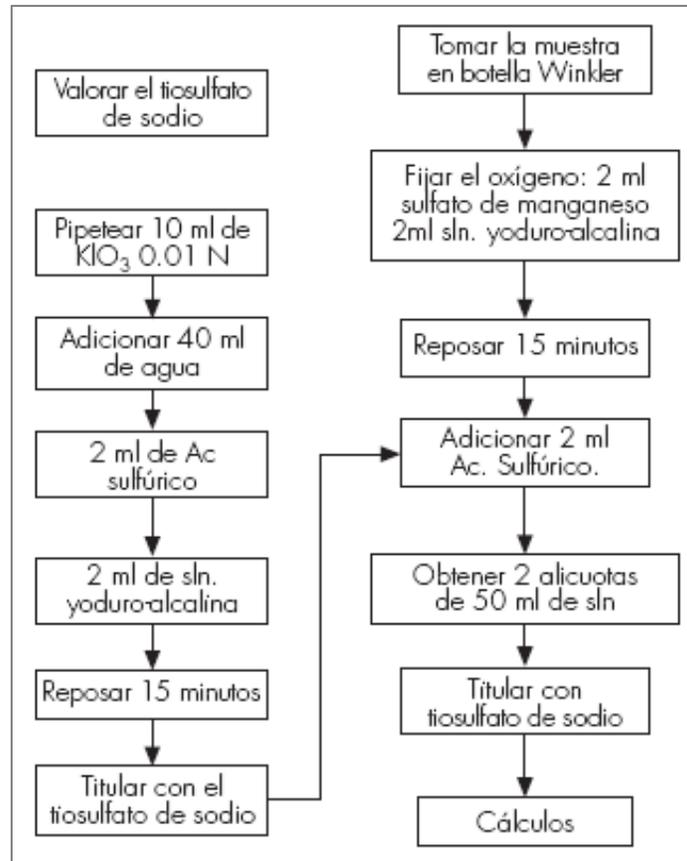


Figura 24. Diagrama de flujo, pasos para llevar a cabo el análisis de oxígeno disuelto.

Fuente: INVEMAR, 2003



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

c. MATERIA ORGÁNICA – BS 1377 - 1990

La materia orgánica es toda clase de sustancia que involucra dentro de su estructura molecular el carbono, en el estudio ambiental hace referencia a dos tipos:

- a) la de origen viviente, que comprende todos los residuos y desechos provenientes de organismos vivos, incluso los mismos organismos; y
- b) la de origen antrópico, en la que entran todas las sustancias sintetizadas por el hombre a través de procesos industriales.

Existen tres procedimientos para la determinación del contenido orgánico en suelos, estos son:

- Pérdida por ignición
- Oxidación con peróxido de hidrógeno
- Oxidación con dicromato

El Método del Dicromato es uno de los recomendados en la BS1377:1975 (The British Standard), como el procedimiento estándar para suelos. Fue introducido primeramente por Walkley en 1935. Se ha encontrado que da resultados reproducibles y aunque la exactitud no es absoluta, es suficiente para propósitos de ingeniería. En suelos que contienen sulfuros o cloruros da resultados altos. Si estas sustancias están presentes, deben ser removidas de la muestra en la etapa de preparación mediante un tratamiento químico adecuado, como se describe en el procedimiento. ANEXO 10.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Alcance y aplicación

Este método es aplicable a todo tipo de sedimento de origen marino o continental. La exactitud no es absoluta pero es suficiente para propósitos de ingeniería.

Toma de muestra, almacenamiento y preservación

En muestras de sedimento la recolección se hace con draga o corer, se transfiere con cuchara de hierro inoxidable o plástica a un contenedor hecho de papel aluminio. Si el análisis no se realiza inmediatamente, es preciso congelar la muestra a una temperatura de -20°C .

Materiales y equipos

- Balanza con una precisión de $\pm 0.001\text{g}$
- Horno de secado ($105\text{-}110^{\circ}\text{C}$)
- Dos frascos volumétricos de 1 L
- Dos buretas, graduadas a 0.1 ml
- Pipetas de 1 y 10 ml
- Dos erlenmeyers de 500 ml
- Una probeta de 200 ml y 20 ml
- Un pesa sales
- Tamices, de 10 mm y $425\ \mu$ de tamaño de malla
- Mortero y mango
- Desecador

Reactivos

- *Solución de dicromato de potasio 1N*: Disolver 49.035 g de $K_2Cr_2O_7$ en agua destilada y completar a un litro de solución.
- *Solución de ácido sulfúrico 0.5N*: Adicionar 14 ml de H_2SO_4 concentrado en agua destilada y completar a un litro de solución.
- *Ácido sulfúrico concentrado* (Gravedad específica 1.84).
- *Solución de sulfato ferroso de aproximadamente 0.5N*: Disolver 140.0 g de sulfato ferroso en ácido sulfúrico 0.5N y completar a un litro de solución.

Esta solución es inestable al aire; por lo cual, debe mantenerse herméticamente tapada. Semanalmente debe ser estandarizada con solución de dicromato de potasio.

- *Ácido fosfórico al 85%* (Gravedad específica 1.70-1.75).
- *Solución indicadora*: Disolver 0.25 g de difenilamina sulfonato de sodio en 100 ml de agua destilada. En su defecto puede utilizarse solución indicadora de ferroina.

Procedimiento

i.Preparación de la muestra

Sólo se requiere una pequeña muestra para el análisis, pero se debe homogeneizar correctamente para que sea representativa.

- La muestra es secada en un horno a 105 – 110 °C, enfriada en un desecador y pesada con una exactitud de 0.1% (m_1)
- Pasar a través de un tamiz de 10 mm
- Pesar la masa que pasó con una exactitud de 0.1% (m_2). Tener cuidado de no perder cualquier partícula fina.
- Reducir la muestra por divisiones sucesivas hasta aproximadamente 100 g.

ii. Muestras que contienen sulfuros

Los sulfuros pueden interferir en los resultados, dando valores altos. Para eliminarlos, adicionar ácido sulfúrico diluido (2N) hasta que no ocurra ninguna emanación de sulfuro de hidrógeno, luego lavar con agua. Secar en un horno antes de proceder a la próxima etapa.

iii. Suelos o sedimentos que contengan cloruros

Los cloruros también pueden producir resultados altos. Para removerlos, lavar el suelo con agua destilada, hasta que ninguna turbidez sea observada cuando una gota del agua de lavado es probada con solución de nitrato de plata. Secar en un horno antes de proceder con la siguiente etapa.

- Pulverizar la muestra con mango y mortero, de tal forma que pase a través de un tamiz de 425 micras
- Subdividir la muestra hasta que pese 5.0 g aproximadamente. Mezclar completamente
- Colocar la muestra en un recipiente de pesaje y secar en un horno a 105-110°C.
- Enfriar en un desecador y pesar con una precisión de $\pm 0.001g$ (m_3)
- Transferir una pequeña cantidad para el análisis a un erlenmeyer limpio de 500 ml, sin pérdida alguna de material



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

La cantidad a ser transferida estará en el rango de aproximadamente 5.0 g para suelos de bajo contenido de materia orgánica, hasta 0.2 g para suelos muy ricos.

iv. Determinación de la materia orgánica:

- Pesar la muestra a tratar (1.0 g) y colocarla en un recipiente cónico (erlenmeyer de 500 ml es suficiente)
- Vertir 10 ml de dicromato de potasio a la muestra
- Adicionar con una probeta, cuidadosamente, 20 ml de ácido sulfúrico concentrado
- Mezclar y agitar por 1 minuto, dejar reposar por 30 minutos sobre una base de asbesto o madera mientras se enfría y ocurre el proceso de oxidación de la materia orgánica. Proteger el recipiente de rupturas.
- Adicionar 200 ml de agua destilada
- Adicionar 10 ml de ácido fosfórico, 1 ml de indicador y agitar completamente. Si el indicador es absorbido por el sedimento adicionar 1 ml más de indicador y agitar
- Realizar la titulación del exceso de dicromato, adicionando sulfato ferroso con incrementos de 0.5 ml y agitar el recipiente, hasta que se produzca un cambio de coloración de azul a verde (con difenilamina sulfonato de sodio como indicador)

v. Calibración

Junto con las muestras llevar a cabo un blanco de reactivos siguiendo el mismo procedimiento que en la muestra, utilizando 1.0 ml de agua destilada.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Es necesario realizar la estandarización del sulfato ferroso cada vez que se vaya a emplear, de acuerdo con el siguiente procedimiento:

- Medir 10 ml de solución 1N de dicromato de potasio y transferirlo hacia un erlenmeyer
- Adicionar cuidadosamente 20 ml de ácido sulfúrico concentrado. Agitar la mezcla y dejar enfriar, colocar en una superficie aislante
- Adicionar 200 ml de agua destilada
- Adicionar 10 ml de ácido fosfórico y 1 ml de indicador, y mezclar completamente
- Adicionar sulfato ferroso desde una bureta con incrementos de 0.5 ml, agitar el frasco hasta que se produzca un cambio de color de azul a verde, registrar el volumen de solución de sulfato ferroso utilizado

vi. Cálculos

Calcular el volumen, en ml (V), de dicromato de potasio usado, para oxidar la materia orgánica en el sedimento a partir de la siguiente ecuación:

$$V = 10 \times \left(1 - \frac{Y}{X} \right)$$

Y = Volumen de sulfato ferroso usado en la titulación de la muestra

X = Volumen usado en la estandarización

Expresado como porcentaje el cálculo de materia orgánica presente con base a peso seco de muestra es:



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

$$\text{Porcentaje de M.O (\%)} = 0.67 \times m_2 \times \frac{V}{m_1 \times m_3}$$

m1 = Peso de muestra antes de tamizar

m2 = Peso de muestra que pasa a través del tamiz de 10 mm

m3 = Peso de sedimento usado en el análisis

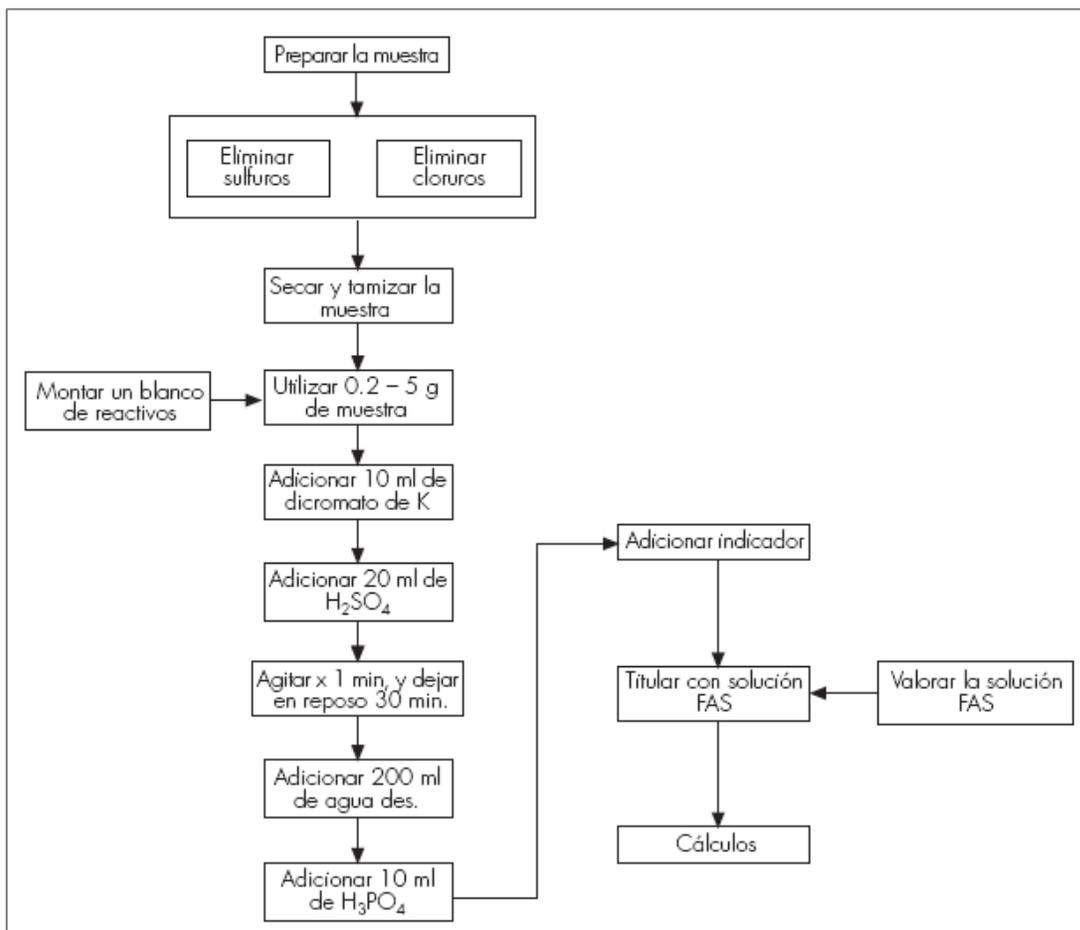


Figura 25. Diagrama de flujo para llevar a cabo el análisis de materia orgánica.

Fuente: INVEMAR, 2003

d. NUTRIENTES (NITRÓGENO Y FÓSFORO) – 4500 C NITROGEN (ORGANIC) – FAO, 1975

El agua marina está constituida por diversos constituyentes inorgánicos, los principales cationes son: calcio (Ca^{+2}), magnesio (Mg^{+2}), sodio (Na^+) y potasio (K^+); los aniones principales son: ion cloruro (Cl^-), sulfato (SO_4^{2-}), carbonato (CO_3^{2-}) y bicarbonato (HCO_3^-). Algunos iones de los constituyentes secundarios son los reconocidos con el nombre de nutrientes, puesto que pertenecen a algunas sales que son utilizadas por los vegetales marinos, (algas) para formar sus tejidos y tienen una significación biológica especial. Estos se presentan en el agua de mar en concentraciones variables, según la actividad biológica, y entre ellos se encuentran el fosfato (PO_4^{3-}), nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), silicato [$\text{Si}(\text{OH})_4$] y amonio (NH_4^+), (Margalef, 1982).

Los nutrientes están presentes en diferentes formas en los sistemas acuáticos y solamente las formas inorgánicas disueltas se encuentran disponibles para los productores primarios.

Nitrógeno total

Se recomienda la utilización modificada del micrométodo Kjeldhal tomada de USEPA (1975), elementos de FAO (1975) y APHA (1992). El nitrógeno total es la suma del nitrógeno orgánico y del nitrógeno amoniacal. La muestra de sedimento se digiere en caliente en presencia de ácido sulfúrico concentrado y catalizadores. Como resultado el nitrógeno orgánico se convierte en amoniaco, y este último en sulfato de amonio. La sal amónica formada se descompone por un álcali cáustico, y el amoniaco liberado se destila a un exceso de ácido sulfúrico o de ácido bórico, determinándose el amonio formado por volumetría. ANEXO 11 y 12.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Equipos

- Digestor Kjeldhal
- Destilador Kjeldhal
- Balón Kjeldhal de 100 ml.
- Erlenmeyer de 100 ml
-

Reactivos

Acido sulfúrico concentrado catalizador: Disuelva 2,5 g de sulfato cúprico en 50 ml de ácido sulfúrico 1:5 (10 ml de H_2SO_4 concentrado, 40 ml de agua libre de amonio), diluya a 100 ml con agua libre de amonio.

Sulfato de potasio: Solución ácido - cobre - sulfato de potasio. Disolver 267 g de K_2SO_4 en 1300 ml de agua libre de amonio y 400 ml de H_2SO_4 concentrado. Adicione 200 ml de la solución de sulfato cúprico y diluir a 2 litros con agua libre de amonio. Guardar en frasco de vidrio con tapa esmerilada es estable por varios meses.

Solución buffer de pH 7,4: Disolver en agua libre de amonio 14,3 g de KH_2PO_4 y 68,8 g de K_2HPO_4 y diluir a 1 L con agua libre de amonio.

Solución de hidróxido de sodio 12,5 M: Se disuelven 500 g de NaOH en agua libre de amonio previamente descarbonatada y se diluye a 1 L. Guardar en frasco de vidrio con tapón de caucho. Estable por varios meses.

Solución de ácido bórico al 4%: Se disuelven 40 g de H_3BO_3 en un litro de agua libre de amonio y se guarda en in frasco ámbar con tapa de vidrio.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Solución etanólica de rojo de metilo al 0,2 %: Disolver 0,2 g de rojo de metilo en un pequeño volumen de etanol al 95% y ajuste el volumen a 100 ml. Guardar en frasco gotero. Estable por varios meses.

Solución de azul de metileno 0,2 %: Disuelva 0,2 g de azul de metileno en aproximadamente 40 ml de agua libre de amonio y llevar a un volumen de 100 ml. Guardar en frasco gotero. Estable por varios meses.

Disolución de indicadores mixtos: Mezclar dos volúmenes de solución etanólica de rojo de metilo al 0,2 % con un volumen de solución de azul de metileno al 0,2 %. Preparar una solución nueva cada 30 días.

Solución de ácido sulfúrico 0,02N: Se prepara diluyendo un volumen adecuado de una disolución de ácido sulfúrico 0,1 N y por último se valora para saber la concentración real de la misma.

Procedimiento

- Se toma una muestra de sedimento de (0,3 g) y se introduce en un balón Kjeldhal. Se adiciona 50 ml de agua libre de amonio y adicione 2 ml de la solución buffer de pH 7,4; evapore la muestra hasta reducir el volumen a la mitad en el digestor Kjeldhal, una vez que la muestra esté a temperatura ambiente, adicione 30 ml de la solución ácido - cobre - sulfato de potasio. Evaporar la mezcla en un digestor Kjeldhal hasta que los de humos de SO_3 desaparezcan y la mezcla se torne azulosa. La digestión se lleva a cabo cuidando que la temperatura sea superior a $360\text{ }^\circ\text{C}$ e inferior a $410\text{ }^\circ\text{C}$, para evitar pérdidas de NH_3 en la mezcla.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Se toman mediante una pipeta 25 ml de la solución de ácido bórico al 2 %, y se pasan a un erlenmeyer de 250 ml, añadiendo unas gotas del indicador mixto y este se coloca en el extremo del capilar que está acoplado al condensador del destilador micro- Kjeldhal.
- Se añade al balón Kjeldhal una porción pequeña de agua libre de amonio y una vez frío se transfiere cuantitativamente el contenido al balón de destilación del destilador micro Kjeldhal y añaden 30 ml de NaOH 12,5 N y el destilado se recoge en un erlenmeyer al que se añadió previamente 25 ml de solución de ácido bórico.
- Destilación. Para el proceso de destilado se llena hasta sus 3/4 partes el balón; se comienza a calentar con un mechero de gas y cuando el agua esté hirviendo, se desconecta, quitando la pinza que está en el tubo de goma de salida. A la salida del condensador, se coloca un frasco erlenmeyer de 250 ml con 25 ml de la solución de ácido bórico para recoger el destilado. La parte final del condensador debe estar sumergida en el ácido bórico.
- Se transfiere cuantitativamente la muestra digerida y diluida embudo, abriendo después la llave y lavando este con 10-15 ml de agua libre de amonio. Después con la llave cerrada se le añaden, 30 ml de hidróxido de sodio 12,5 M, permitiendo que este pase al balón de destilación y se cierra. Después se cierra de nuevo el tubo y se vuelve a calentar el balón. El vapor así producido, pasa al balón de destilación arrastrando el amoníaco a través de la trampa de vapor y del condensador, hasta recoger aproximadamente 100 ml y retire el erlenmeyer antes de apagar el equipo de destilación. Acto seguido, se retira la fuente de calor; se quita la pinza y se introduce a través del embudo agua destilada para lavar el balón de destilación. Después se aprieta la pinza de nuevo se cierra la llave del embudo y se vuelve a calentar el frasco.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Por medio de esta operación el equipo queda en condiciones óptimas para otra determinación.

Para la valoración se adiciona 3 gotas del indicador mixto al destilado y se valora con el ácido 0,02 N. Se corrige el contenido de amonio en los reactivos valorando el blanco hecho con agua libre de amonio.

Cálculos

El tanto por ciento de nitrógeno se calcula de la siguiente forma:

$$NO (\%) = \frac{(T - B) \times N \times 1.4}{s}$$

Donde:

T = ml de ácido valorado gastados en la valoración de la muestra.

B = ml de ácido valorado gastado en la valoración en blanco.

N = normalidad del ácido valorado.

s = peso de la muestra en gramos



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Fósforo total

Se recomienda emplear una modificación del método propuesto por FAO (1975) que consiste en digerir la muestra con una mezcla oxidante formada por los ácidos sulfúrico, nítrico y perclórico en vez de añadir los reactivos por separado como plantea el método original.

El material orgánico de la muestra se transforma en dióxido de carbono y agua por medio de una hidrólisis ácida oxidativa a altas temperaturas. Los demás elementos como por ejemplo el fósforo y los metales son liberados de la fracción orgánica y se disuelven en el medio. Por último a un volumen de muestra digerida y filtrada o sedimentada se adiciona ácido ascórbico y reactivo molibdato de amonio. Midiéndose la intensidad de la coloración del complejo azul de molibdeno en un espectrofotómetro a 882 nm. Se pueden analizar muestras con un rango de concentraciones de 20 a 1500 µg/g.

Almacenamiento de la muestra

La muestra de sedimento se deposita en una bolsa de nylon permaneciendo en congelación hasta su llegada al laboratorio, donde se seca en estufa a 110 °C por 24 horas. Una vez seca se tritura en un mortero de ágata y se pasa por un tamiz de 0,2 mm. El sedimento triturado se guarda en un frasco de vidrio con tapa y debidamente rotulado.

Equipos

- Digestor Kjeldhal.
- Balones Kjeldhal de 100 ml.
- Volumétricos de 250 ml.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Cilindros graduados de 50 ml.
- Espectrofotómetro o fotómetro de filtro a 882 nm.

Reactivos

Mezcla oxidante: Disolver con cuidado 250 ml de ácido sulfúrico concentrado 96-98 %, en 250 ml de agua destilada. A esta solución se agregan 200 ml de ácido nítrico concentrado y 50 ml de ácido perclórico y por último se lleva a un volumen de 1 L.

Acido sulfúrico 4.75 M: Remítase a la determinación de fósforo inorgánico en agua.

Solución de heptamolibdato 0.073 M: Para su preparación ver método de fósforo inorgánico en agua.

Solución de antimonil tartrato de potasio 0.1 M: Remítase a la determinación de fósforo inorgánico en agua.

Reactivo ácido molibdato: Preparar de igual manera que en fósforo inorgánico.

Solución de ácido ascórbico 0.4 M: Remítase a la determinación de fósforo inorgánico en agua.

Solución madre de fosfato: Disolver 0.4392 g de KH_2PO_4 (secado a peso constante a 105 °C en agua destilada). Añadir 1 ml de ácido sulfúrico 4.75 M como preservante y diluir a 1 L.

1 ml = 100 $\mu\text{gPO}_4\text{-P}$.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOSCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Calibración o Ajuste

Mezcle 2 ó 3 muestras de sedimento de concentración conocida (700-750 $\mu\text{g/g}$). Pesar 7 muestras de 0,5 g cada una y transferir a balones Kjeldhal, adicionar a estos balones (cinco de ellos), cantidades variables de fosfato 0,0 ml al balón (1) y 2 ml muestra blanco al balón (2), 2 ml al balón (3), 3 ml al balón (4), 4 ml al balón (5), 5 ml al balón (6) y 6 ml al balón (7).

Proceder de igual forma que con las muestras. La absorbancia se plotea contra concentración en $\mu\text{g}/0,5\text{g}$ de muestra. La lectura para la muestra blanco de sedimento se deduce de aquella que contiene la solución patrón de fósforo añadido y que no se le añade ácido ascórbico.

Procedimiento

- Pesar 0,5 g del sedimento y transferirlo a un balón Kjeldhal. Si queda sedimento adherido al frasco este se arrastra con agua destilada. Añadir ebullidores y 9 ml de la mezcla oxidante
- Las muestras se digestan hasta que el contenido del balón quede transparente y que los humos blancos lleguen +3 cm del cuello del balón. Una vez frío se añade 15 ml de agua destilada y se pone a ebulir suavemente. Al enfriarse el balón se filtra la solución en un volumétrico de 250 ml, cuando se termine de filtrar se enrasa. También la solución se puede transferir cuantitativamente a un volumétrico de 250 ml, enrasar y dejar que sedimente durante toda la noche.
- Pipetear 5 ml a un cilindro graduado de 50 ml y adicionar 25 ml de agua destilada junto a 5 gotas de ácido ascórbico y 1 ml de reactivo ácido



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- molibdato. Mezclar bien la solución después de la adición. Medir la absorbancia al cabo de los 5 min. a 882 nm en celdas de 1 cm contra agua destilada.
- Analizar 3 ó 4 muestras de sedimentos a las que se le añade un patrón de fósforo paralelo a las muestras. Un sedimento patrón sin ácido, puede ser usado como blanco. La absorbancia de este se resta a la de las muestras.

Cálculos

Las concentraciones se calculan por la expresión:

$$P(u/g) = \frac{a}{b}$$

Donde:

P = concentración de P total en $\mu\text{g/g}$.

a = valor obtenido de la curva en $\mu\text{g}/0,5\text{g}$.

b = peso de la muestra en gramos.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

e. METALES – 3050 B (EPA)

Los metales asociados a la materia orgánica deben convertirse a una forma en la que puedan leerse por espectroscopia. Para esta digestión puede usarse ácido nítrico, ácido sulfúrico o ácido nítrico - perclórico, pero deberá reportarse la técnica de digestión aplicada.

En los sedimentos los metales pueden constituir varias fracciones, por tal motivo el análisis de la muestra puede realizarse por duplicado: una digestión débil en la fracción total del sedimento con el fin de obtener los metales biodisponibles y una extracción fuerte para determinar el contenido total en el grano.

El método aquí descrito involucra una extracción con HCl 0.1N; agitación por 24 horas y determinación cuantitativa por una técnica espectrométrica (Absorción o Emisión Atómica Inductivamente Acoplada - ICPS). ANEXO 12.

Alcance y aplicación

Este método es aplicable a todo tipo de sedimento marino o continental y permite detectar en el extracto concentraciones del orden de 10^{-6} a 10^{-7} g/l del metal en cuestión.

Toma de muestra, almacenamiento y preservación

Las muestras de sedimento, según las facilidades con que cuente el laboratorio se colectan con cono o corer plásticos y se transfieren luego a bolsas de polietileno convenientemente rotuladas. Si sólo se dispone de dragas, la muestra debe colectarse usando cucharas plásticas y tomando de la parte central el sedimento que no ha tenido contacto con las paredes de metal.

Las muestras se deben transportar al laboratorio bajo refrigeración.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

La mejor forma de almacenar y preservar la muestra es secándola en liofilizador y almacenarla en un medio exento de humedad. Si el análisis inmediato no es posible, y tampoco se cuenta con un equipo liofilizador es conveniente homogenizar la muestra y colocarla en cajas petri tratadas con HNO₃ 10% y secar a 60°C hasta peso constante. Estando la muestra libre de humedad, se almacena en bolsas plásticas. Previamente se tamizan a través de una malla de 63 µ. Sólo la fracción menor a 63 µ se utiliza para estudios ambientales.

Para el análisis de Hg y Pb se seca la muestra sólo con liofilizador.

Materiales y equipos

- Espectrofotómetro de absorción atómica o espectrómetro de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente ICPS
- pH-metro
- Sistema de secado al vacío (liofilizador)
- Desionizador de agua
- Sistema para tamizado, tamiz de 63 µ
- Embudos de separación de 500 y 2000 ml
- Beakers de 50, 100 y 250 ml
- Erlenmeyers de 125 ml
- Pipetas de 2, 5, 10 y 20 ml
- Balones aforados de 100 ml
- Balanza analítica
- Agitador magnético
- Cajas de petri
- Cucharas plásticas
- Sistema de secado al vacío (liofilizador)
- Papel filtro # 40



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Reactivos

- Agua libre de metales
- Ácido clorhídrico concentrado
- Ácido nítrico concentrado
- Ácido Perclórico concentrado – HClO_4 : usar grado supra puro o analítico
- Hidróxido de amonio
- Argón ultra puro grado 5.0 (ICP)
- Acetileno y aire (Absorción atómica)
- Soluciones de referencia para cada metal (1g/l)

Procedimiento

i. Metales totales (Extracción fuerte)

- Pesar 0.4 g de sedimento seco y tamizado
- Agregar 3.0 ml de HNO_3 concentrado (usar cámara de extracción)
- Adicionar 1 ml de HClO_4 concentrado
- Dejar reaccionar y calentar a 100°C por 16 horas. en plancha de calentamiento
- Filtrar en membranas Wathman # 40 o centrifugar
- Recuperar el filtrado en balones aforados de 10 ml
- Completar a volumen con HCl 0.1N
- Preparar un blanco reactivo de igual manera que la muestra
- Cuantificar por Espectrometría de Absorción o de Emisión Atómica (ICP)

ii. Calibración

Ver numeral 6.1 d - i.

Las soluciones de estándares deben ser preparadas empleando HCl 0.1N en el caso de sedimentos.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

iii. Cálculos

Determinar la concentración de cada metal, en microgramos por gramo, refiriéndose a la curva de calibración correspondiente.

$$C_m = \frac{C_e \times V_e}{W_m} \times f$$

C_m = Concentración de la muestra ($\mu\text{g/g}$)

C_e = Concentración del extracto ($\mu\text{g/ml}$)

W_m = Peso de la muestra seca utilizada para el análisis (g)

V_e = Volumen del extracto (ml)

f = Factor de dilución

iv. Recomendaciones

Si los valores de las muestras se encuentran por encima del rango de los estándares (curva de calibración), diluir la muestra con solución de HCl. 0.1 N, volver a analizar en el espectro y aplicar el factor de dilución apropiado en los cálculos.

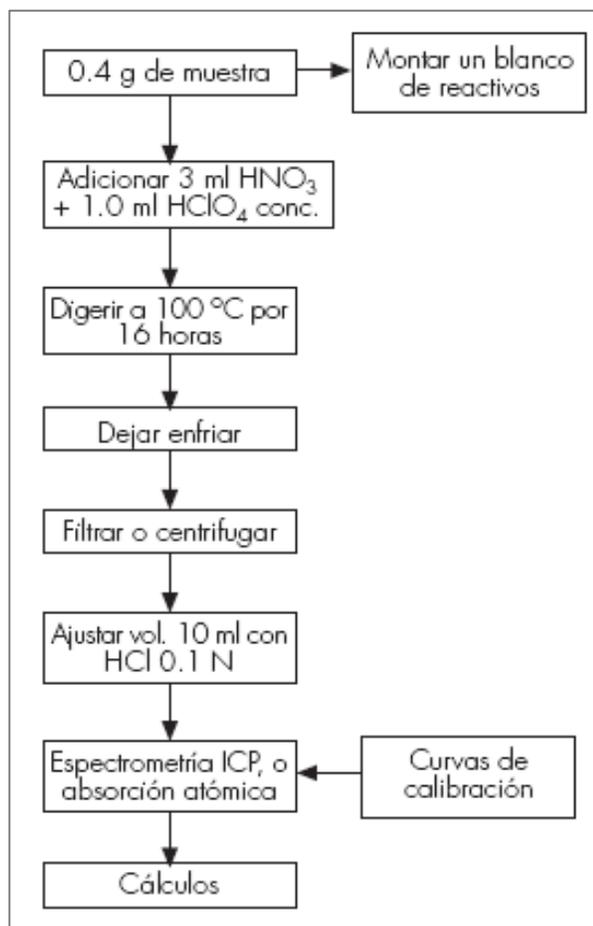


Figura 26. Diagrama de flujo, para llevar a cabo el análisis de metales (Extracción fuerte).

Fuente: INVEMAR, 2003

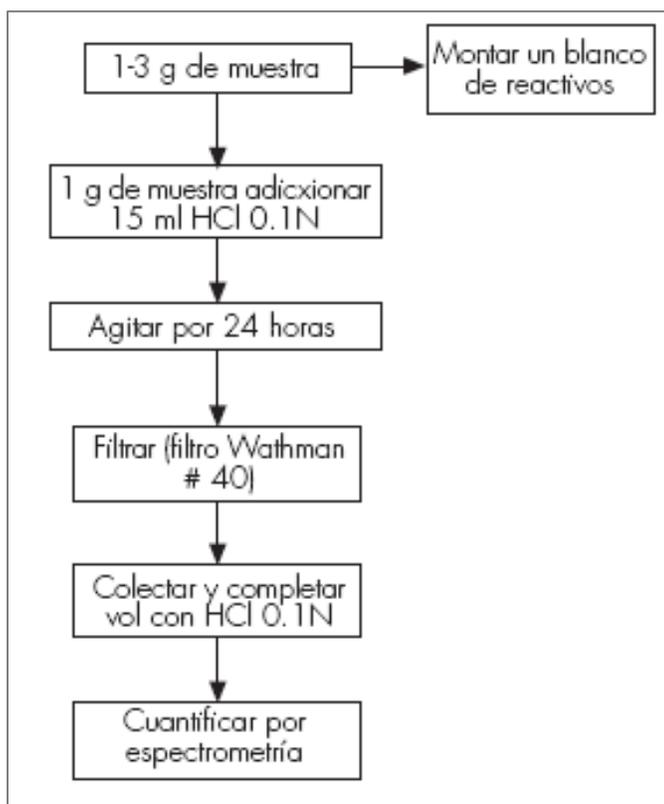


Figura 27. Diagrama de flujo, para llevar a cabo el análisis de metales (Extracción débil).

Fuente: INVEMAR, 2003



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

f. XILENO – 5021 (VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS IN SOILS AND OTHER SOLID MATRICES USING EQUILIBRIUM HEADSPACE ANALYSIS) / 8021 B

Se propone la utilización del método 5021 EPA (VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS IN SOILS AND OTHER SOLID MATRICES USING EQUILIBRIUM HEADSPACE ANALYSIS), para la preparación de las muestras. Seguido por el método de cuantificación 8021 B EPA (AROMATIC AND HALOGENATED VOLATILES BY GAS CHROMATOGRAPHY USING PHOTOIONIZATION AND/OR ELECTROLYTIC CONDUCTIVITY DETECTORS)

Con la técnica denominada “headspace” se pueden determinar indirectamente compuestos volátiles en muestras líquidas o sólidas, mediante el análisis de la fase vapor que está en equilibrio termodinámico con la muestra en un sistema cerrado.

El muestreador-inyector de espacio de cabeza semiautomático (HS-6) resulta muy útil para la determinación de compuestos volátiles en muestras muy complejas. Con este dispositivo solamente se analizan los componentes presentes en la fase gaseosa que se encuentra sobre la muestra, previamente termostatada, mientras que el residuo no volátil no afecta en absoluto al análisis. La muestra puede ser sólida, turbia o altamente viscosa, puesto que al sistema de inyección únicamente llegarán las sustancias volátiles. Utilizando este muestreador-inyector, el análisis cuantitativo de componentes volátiles en muestras insolubles (láminas, polímeros, etc.) por extracción múltiple de espacio de cabeza, puede llevarse a cabo de manera simple y rápida.

Las principales características de dicho dispositivo son:



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- El material que constituye la muestra es colocado en un vial herméticamente cerrado, en el mismo lugar en que la muestra sea asequible, y no necesariamente en el laboratorio.
- Naturalmente, el recipiente para la muestra y el sistema cerrado herméticamente serán químicamente inertes.
- El mismo vial de recogida de muestra se introduce en el dispositivo de espacio de cabeza, lo que garantiza que no haya pérdida de muestra.
- En muchos casos el método de espacio de cabeza, evita el tener que realizar una serie de pasos analíticos previos, y en el caso de que sean necesarios pueden efectuarse en el mismo vial que contiene la muestra.
- Las condiciones de temperatura y de presión permanecen constantes de una muestra a otra. Se dispone de una termostatación precisa desde +35 °C hasta +190 °C.
- Las etapas críticas en el proceso de inyección de las muestras son controladas de manera precisa por un ordenador. Como consecuencia de ello, el volumen de gas inyectado en el cromatógrafo es prácticamente constante.
- El sistema de inyección es termostatado incluso durante la misma inyección.
- No hay posibilidad de contaminación de una muestra con otra, ni necesidad de una limpieza complicada de jeringas.
- Los residuos no volátiles no llegan ni al tubo inyector ni a la entrada de la columna.
- Todos los inconvenientes de la inyección con jeringa desaparecen.
- No existe ninguna parte móvil en contacto directo con la muestra.
- La superficie que está expuesta al contacto con la muestra gaseosa es mínima.
- No existe el problema de agujas obturadas



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Alcance

El método es aplicable a un amplio espectro de compuestos orgánicos que presentan una alta volatilidad. Presenta un límite de detección de 0,1 µg/l.

Materiales y equipo

- Contenedores de vidrio transparente
- Viales
- Tekmar Model 7000 Equilibrium Headspace Autosampler
- VOA viales
- VOA viales con PTFE

Reactivos

- Agua libre de orgánicos libres
- Metanol, CH₃OH,
- Soluciones de calibración
- Soluciones estándar
- Soluciones estándar para calibración
- Solución blanco
- Solución matriz modificada
-

Procedimiento

En cuanto al funcionamiento del dispositivo HS- 6, las etapas de introducción de la muestra en la columna cromatográfica mediante dicho dispositivo se indican a continuación:



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Se coloca el vial que contiene la muestra en el depósito termostático del inyector. Pueden ser termostatados simultáneamente varios viales.
- Los componentes volátiles de la muestra son entonces vaporizados, estableciéndose un equilibrio entre la muestra y la fase vapor generada
- La salida del capilar o aguja de inyección está en principio cerrada por un *septum*. Una corriente de gas portador fluye por la columna (válvula 1 abierta).
- Al mismo tiempo, una corriente de purga fluye hacia la atmósfera para evitar la acumulación de residuos (válvula 2 abierta). Una vez que se alcanza el equilibrio en el vial de la muestra, se gira el dispositivo hasta la posición de inyectar dicho vial y se empuja hacia su posición superior para efectuar la inyección
- El capilar de inyección perforará el *septum* que cierra su salida y el *septum* del vial, situándose en el espacio de cabeza del mismo (en la fase vapor sobre la muestra). Se pone en marcha ahora un programa previamente seleccionado en el cromatógrafo, mediante el cual la válvula 2 se cierra y comienza una etapa de presurización. El aumento de presión dentro del vial tiene lugar a través de la aguja mediante gas portador precalentado. La duración del período de ajuste de la presión es controlada electrónicamente y seleccionable entre los siguientes valores: 0,5; 1; 4; 8; 16; min.
- Al final del período de presurización seleccionado comienza la etapa de inyección propiamente dicha (válvulas 1 y 2 cerradas). La interrupción de gas portador y la caída de presión a la entrada de la columna da lugar a una compensación de presión que hace que el vapor que se encuentra en el espacio de cabeza del vial fluya hacia la columna a través del capilar.
- La etapa de inyección también es controlada electrónicamente; por lo general dicha etapa tiene lugar durante cinco segundos e inicia el período de análisis (válvula 1 abierta, válvula 2 cerrada); el final del mismo se controla



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

manualmente. Se tira del dispositivo hacia su posición inferior, una vez que hayan pasado todos los componentes por la columna, restableciéndose las condiciones iniciales, y seguidamente se puede efectuar una nueva inyección.

Para mayores detalles revisar ANEXO 13.

g. PENTACLOROFENOL – 8041 A (PHENOLS BY GAS CHROMATOGRAPHY)

Se propone la utilización del método 8041 A EPA (PHENOLS BY GAS CHROMATOGRAPHY). El método describe el uso de procedimiento cromatográficos con columna capilar para el análisis de fenoles utilizando dispositivos de columna simple y columna doble con doble detector. Las columnas se conectan mediante una pieza “T” con dos detectores idénticos.

Para muestras sólidas la extracción debe llevarse a cabo mediante el método 3540 ó 3550 (EPA), y debe realizarse una purificación posterior empleando método EPA 3650 de partición ácido base. ANEXO 14.

Alcance

Tabla 9. Fenoles y MDLs (method detection limit) que se estudian por medio del método EPA 8041

Fuente: Método EPA 8041

Analito	MDL µg/L	Analito	MDL µg/L
2-sec-butil-4,6-dinitrofenol	--	2-Metil-4,6-dinitrofenol	16,0
4-Cloro-3-metilfenol	0,36	2-Nitrofenol	0,45
2-Clorofenol	0,31	4-Nitrofenol	2,8
Cresoles (metilfenoles)	--	Pentaclorofenol	7,4
2-Ciclohexil-4,6-dinitrofenol	--	Fenol	0,14
2,4-Diclorofenol	0,39	Tetraclorofenoles	--
2,6-Diclorofenol	--	Triclorofenoles	--
2,4-Dimetilfenol	0,32	2,4,6-Triclorofenol	0,64
2,4-Dinitrofenol	13,0		



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Equipo y Material

- Cromatógrafo de gases; equipamiento necesario, jeringas, columnas de análisis, detector de ionización de llama (FID), detector de captura de electrones (ECD), sistema de captura de datos.
- Columnas GC
- Columna 1 – 30 m x 0.53 mm de diámetro de sílice tubular
- Columna 2 - 30 m x 0.53 mm de diámetro de sílice tubular abierto
- Splitter
- Columna de lavado
- Generadores de diazometano
- Equipo derivatización PFBBr, graduada de 10 ml

Reactivos

- Disolventes; hexano, acetona, iso-octano
- Soluciones patrón estándar
- Soluciones de patrón composite
- Estándares de calibración
- Estándar interno
- Estándar sustituto
- Reactivos para la derivación; N-metil-N-nitroso-p-toluensulfonamida (Diazald), éter dietílico estabilizado con BHT, ácido silícico H_2SiO_5 , HPLC hexano,



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Muestreo, almacenamiento y preservación

Todas estas muestras sólidas se guardan en botes de plástico a temperatura ambiente y en ausencia de luz hasta proceder a su análisis.

Se recomienda que los extractos que se someten a derivación metilado en 48 horas, deben ser analizadas inmediatamente para minimizar la ocurrencia de otras reacciones.

Procedimiento

Extracción

Las muestras sólidas se extraen utilizando el método 3540 ó 3550.

- Si los fenoles son determinados por medio de derivación, el solvente debe ser concentrado a 1 ml. Si la muestra será analizada por GC/ECD, la extracción por medio de solventes (cloruro de metilo) debe ser realizada mediante intercambio con hexano u otro disolvente compatible no halogenado. Si se realiza metilación con diazometano, la muestra debe ser diluida a un volumen final de 4 ml con éter dietílico. Si la derivación se realiza con PFBBr la muestra debe ser diluida a un volumen final de 4 ml con acetona
- Para los distintos procedimientos de acuerdo a las distintas derivaciones ver resumen método y referencia ANEXO 4.
- Las muestras obtenidas mediante el método de preparación deben ser limpiadas previamente al análisis, debe ser utilizado un disolvente compatible con el detector GC



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Los fenoles derivatizados pueden ser analizados mediante FID, sólo una o doble columna de enfoque
- Los fenoles objetivos de análisis pueden ser derivatizados con diazometano o PFBBr y analizados por medio de GC/FID o GC/ECD respectivamente.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

h. DDT - EPA, 1980

Este método describe la determinación de DDTs y PCBs en organismos y sedimentos marinos por medio de Cromatografía de Gases (CG). Otros pesticidas halogenados y compuestos orgánicos que capturen electrones, pueden estar presentes en estas muestras y muchos de estos podrían ser determinados por este método, sin embargo, no todos los residuos son estables al procedimiento de limpieza aplicado al análisis de PCBs y DDTs.

Es utilizado para la determinación de plaguicidas organoclorados absorbidos en sedimentos marinos y estuarinos; las muestras pueden abarcar tanto el subsuelo marino, como las playas. Si se requiere un estudio más detallado, se debe separar las muestras en dos fracciones, mayor y menor a 63 μm .

El método se fundamenta en una extracción sólido - líquido continua de los plaguicidas con hexano-acetona (1:1). El extracto obtenido se concentra y se pasa por una columna empacada con Florisil para ser fraccionado mediante la elución con éter - hexano en diferentes proporciones. Los extractos son luego concentrados y analizados por cromatografía de gases usando detector ECD. ANEXO 7.

Alcance y aplicación

Este método es aplicable a todo tipo de sedimentos marinos o continentales. El rango óptimo de trabajo es 10⁻⁹ – 10⁻¹² g, dado por la linealidad del detector. La mínima concentración que puede ser detectada es de 10⁻¹² g y los siguientes compuestos pueden determinarse por este método: Clordano, α -BHC, β BHC, Lindano, Heptacloro, Epoxido, p, p, - DDE, o,p, - DDE, Dieldrin, Endrin, o,p'-DDD, o,p'-DDD, o,p'-DDT.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Toma de muestra, almacenamiento y preservación

Las muestras se recolectan con una draga metálica tipo Van Veen, conos o cucharas, de donde se empaacan en bolsas plásticas para ser transportadas al laboratorio. La mejor forma de almacenar y preservar la muestra es secándola; y para esto el mejor procedimiento es la liofilización (secado a bajas temperaturas), y el almacenamiento en un medio exento de humedad. Si el análisis inmediato no es posible, y tampoco se cuenta con un equipo liofilizador, es conveniente secarla en estufa a 40 °C hasta que la muestra esté libre de humedad. Posteriormente, se almacena en bolsas plásticas o en papel aluminio, asegurándose de mantenerlas en un desecador. Otra alternativa muy eficaz es mantener congeladas las muestras a -20°C (mediante hielo seco), envueltas en papel aluminio dentro de bolsas plásticas por un periodo no mayor a 15 días.

Materiales y equipos

- Cromatógrafo de gases equipado con Detector de Captura Electrónica (ECD)
- Equipo de extracción Soxhlet
- Rotavaporador
- Concentrador Kuderna Danish
- Balanza analítica precisión +/- 0.00001 g
- Horno para secado
- Plancha de calentamiento
- Beakers de Pyrex de 100, 150, 200 y 1000 ml
- Probetas graduadas de 50, 100 y 250 ml
- Erlenmeyers de 125 y 250 ml
- Columna de vidrio 25 cm de largo x 1 cm de diámetro interno con llave de teflón



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Pipetas Pasteur
- Pipetas volumétricas de 1, 2, 5, y 10 ml
- Matraz aforado de 25, 50 y 100 ml
- Microjeringas de 10 μ l Desecadores
- Viales de 2 o 5 ml con tapa rosca de teflón

Reactivos

- Gas nitrógeno (N₂) grado 4.5
- n-Hexano calidad pesticida
- n-Decano, R.A
- Éter etílico, R.A
- Acetona, R.A
- Metanol calidad pesticida
- Florisil PR, 60 - 100 Mesh
- Acido sulfúrico concentrado, libre de Hidrocarburos clorados (HC)
- Sulfato de sodio anhidro
- Dicromato de potasio
- Estándares de pesticidas (Hidrocarburos clorados)

Precaución. Los compuestos estándares son altamente tóxicos y deben ser manejados con extremo cuidado para evitar contacto con la piel o inhalación.

Procedimiento

i.Extracción

Si la muestra es húmeda pesar de 5 a 7 g (sedimento húmedo), y mezclar con tres veces su peso de sulfato de sodio anhidro, hasta que parezca estar seca; transferir la mezcla al vaso del soxhlet.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Colocar en el balón del equipo soxhlet 150 ml de una mezcla de acetona - n-hexano (1:1), y unos cuerpos de ebullición
- Extraer en el aparato soxhlet por 8 horas, a una razón de 4 ó 5 veces de vaciado por hora
- Extraer la misma cantidad de sulfato de sodio, para el seguimiento del blanco de reactivos
- Trasvasar a un embudo de separación de 250 ml, agregar 150 ml de agua desionizada y agitar fuertemente para retirar la acetona
- Separar las fases, desechar la capa inferior (acetona - agua) y conservar la de hexano
- Lavar la capa hexánica con 150 ml de una solución de sulfato de sodio 2%. Retirar la fase acuosa
- Colocar la fase orgánica en un erlenmeyer de 125 ml, agregar 0.5 g de sulfato de sodio anhidro y dejar en reposo para retirar la humedad
- Concentrar el extracto en rotavapor hasta 2 ml aproximadamente y depositarlo con pipeta Pasteur en viales pequeños (2 ó 5 ml)

ii. Preparación de la columna de Florisil

- La cromatografía de columna se prepara empleando una columna de vidrio de 25 cm de alto y de 1.0 cm de diámetro interno
- Enjuagar las columnas para fraccionar con acetona y colocar en la estufa a 110 °C
- En el extremo inferior, fijar una pieza de lana de vidrio, para retener el adsorbente
- Mezclar 16 g de Florisil con 30 ó 40 ml de n-hexano los cuales son vertidos a la columna, adicionar 1.0 cm de sulfato de sodio sobre el nivel de Florisil, para



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

evitar disturbios en la primera capa cuando los solventes son vertidos a la columna. Terminado esto, eluir 50 ml de n-hexano como lavado

iii. Purificación en columna de Florisil

Especialmente en muestras de sedimentos y organismos, es necesario purificar el extracto antes de proceder con el análisis. La limpieza y separación son logradas por medio de cromatografía de partición, como sigue:

- Concentrar el extracto en Kuderna Danish o baño María hasta 0.5 ml
- Percolar el extracto en una columna de Florisil.
- Eluir con 200 ml de éter en hexano al 6%
- Eluir con 200 ml de éter en hexano al 15%
- Reunir los dos eluidos anteriores en un erlenmeyer de 100 ml
- Eluir con 200 ml de éter en hexano al 50% Recibir en otro erlenmeyer
- Colocar alambre de cobre o mercurio metálico para la desulfuración, hasta que no se aprecie la precipitación de los sulfuros sobre el metal
- Concentrar en rotavapor hasta 2 ml
- Almacenar el extracto en un vial de vidrio de 5 ml para su análisis final por cromatografía de gases

iv. Purificación con ácido sulfúrico concentrado

- Concentrar el extracto en baño María hasta 0.5 ml
- Transvasar el extracto a un tubo de 10 ml con tapa rosca
- Adicionar 1 ml de H_2SO_4 concentrado, agitar vigorosamente por 30 segundos
- Dejar en reposo hasta la separación de las fases
- Enjuagar con 20 ml de n-hexano

- Retirar con una pipeta Pasteur la fase ácida. Repetir el proceso hasta que la fase orgánica sea clara y completamente translúcida
- Lavar el extracto con agua desionizada, agitar y retirar la fase acuosa
- Adicionar suficiente cobre o mercurio metálico para desulfurar el extracto
- Adicionar 0.5 g de Na₂SO₄ anhidro para secar el extracto
- Almacenar el extracto en un vial de vidrio de 5 ml para su análisis final por cromatografía de Gases Si el análisis cromatográfico no se realiza inmediatamente, mantener refrigerados los extractos a +/- 2 °C y protegidos de la luz.

v. Cuantificación

La cuantificación de cada pesticida se realiza a través de un análisis por cromatografía de gases, los extractos secos de las muestras, se reconstituyen con 25 - 100 µl de n- Decano (nC₁₀) y se inyecta 0.5 µl en el cromatógrafo de gases con detector ECD.

vi. Calibración

El proceso de calibración es idéntico al descrito en el numeral 3.5.

vii. Cálculos

Identificados los picos del cromatograma, con las áreas reportadas se procede a calcular la concentración del compuesto *i* en el extracto, de la siguiente forma:

$$C_i = \frac{\text{Área} - b}{m}$$

Y = Área = Área del pico reportado por el cromatograma

X = C_i = Concentración de la sustancia *i* en el extracto pg/µl



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

b = Intercepto

m = Pendiente de la curva de regresión

La concentración de la sustancia i en la muestra sería:

$$ng / g = \frac{C_i \times V_e \times 0.001}{W}$$

C_i = Concentración de la sustancia i en el extracto de muestra (pg/ μ l)

V_e = Volumen final del extracto (50 μ l)

W = Peso de muestra seca sometida a análisis (g)

viii. Recomendaciones

Son válidas de igual forma las recomendaciones dadas en el numeral 6.1 g-viii.

Es necesario llevar un blanco de reactivos a través de todos los pasos del método.

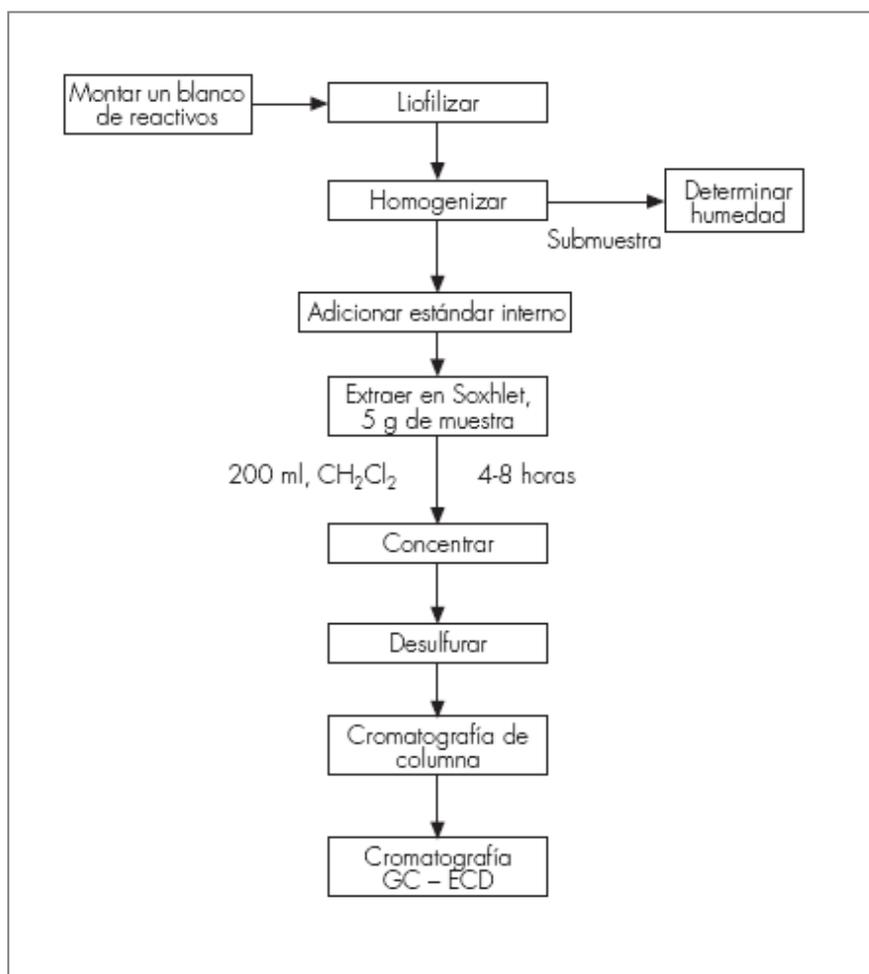


Figura 28. Diagrama de flujo para llevar a cabo el análisis de DDT en sedimentos.

Fuente: INVEMAR, 2003



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

7.3 ORGANISMOS BIOLÓGICOS

a. METALES (MERCURIO, CADMIO, PLOMO) – 320 A/ 7010 (EPA)

Mercurio: El mercurio es el contaminante más tóxico de los metales, con efectos nocivos en los organismos marinos. Una vez incorporado en la célula puede enlazarse a ligandos con grupos sulfidrilos tales como glutatión y metalotioninas (Hultberg *et al.* 2001). Estas moléculas intervienen en los procesos de acumulación, metabolización y depuración de los metales. Los contaminantes, incluido el mercurio, pueden inducir estrés oxidativo en las células, generando gran cantidad de radicales libres (Livingstone 2001). Estos radicales pueden producir la muerte celular si no son contrarrestados por mecanismos antioxidantes, entre los que se encuentran principalmente las enzimas antioxidantes, el glutatión y las metalotioninas que participan en la eliminación de especies reactivas (Regoli y Principato 1995).

Formas de mercurio de baja toxicidad pueden ser transformadas por medio de procesos biológicos y químicos en formas con altos valores de toxicidad. Los organismos que viven en contacto con sedimentos marinos, pueden llegar a contener mayores niveles de mercurio que aquellos que se alimentan y viven por sobre el sedimento o en la interfase agua – sedimento (Klemmer *et al.*, 1976).

La acumulación de mercurio en bivalvos marinos depende de un sinnúmero de factores: la forma química del mercurio presente (Cunningham y Tripp, 1975a); la temperatura del agua (Fowler *et al.*, 1978; Nelson *et al.*, 1977); salinidad del medio (Dillon y Neff, 1978; Olson y Harrel, 1973); especificidad del tejido (Cunningham y



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Tripp, 1975; Dimitriadis *et al.*, 2003; Wrench, 1978); estación del año (De Wolf, 1975).

Cadmio: El cadmio no tiene una función biológica en moluscos u otros organismos marinos. En general se reconoce que existe una correlación positiva entre las concentraciones de cadmio en el tejido de moluscos y la cercanía a zonas fuertemente urbanizadas, especialmente en zonas donde se desarrolla la minería (Fowler and Oregioni, 1976; Graham, 1972; Maanan, 2007).

Las principales fuentes antropogénicas por las cuales se libera cadmio al ambiente son los usos de este elemento. Sus derivados se utilizan en pigmentos y pinturas, baterías, como estabilizadores del cloruro de polivinilo (PVC), como recubrimiento de otros metales, en procesos de galvanoplastia, electro plateado, en aleaciones, en acumuladores, en soldaduras, en reactores nucleares, en joyería, etc. (Pringle y Shuster, 1997).

En las aguas superficiales, el cadmio se presenta como ión libre; en su solubilidad influyen la dureza, el pH, los complejos solubles y los sulfuros coloidales de éstas. Cuando las aguas dulces llegan al mar, el ión cadmio, al igual que los iones de otros metales pesados, tiende a depositarse en los sedimentos y así queda limitado a las aguas de las costas y los estuarios. Esta inmovilización es potencialmente peligrosa, ya que pueden llegar a disolverse de nuevo si el pH disminuye (Albert, 1990).

El Cd es un elemento estable y no se degrada en el ambiente, es considerado como uno de los más tóxicos para un gran número de organismos marinos, siendo acumulado por los bivalvos en proporciones que, en algunos casos, pueden constituir un serio peligro si son destinados a la alimentación humana (Gutiérrez *et al.*, 1978).



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Plomo: El Plomo ocurre de forma natural en el ambiente, pero las mayores concentraciones que son encontradas en el ambiente son el resultado de las actividades humanas.

El Plomo proveniente de la combustión de los combustibles, entran en el ambiente a través de los tubos de escape. Las partículas grandes precipitarán en el suelo o la superficie de aguas, las pequeñas partículas viajarán largas distancias a través del aire y permanecerán en la atmósfera. Parte de este Plomo caerá de nuevo sobre la tierra cuando llueva.

El Plomo puede terminar en el agua y suelos a través de la corrosión de las tuberías de Plomo en los sistemas de transportes y a través de la corrosión de pinturas que contienen Plomo.

El Plomo se acumula en los cuerpos de los organismos acuáticos y organismos del suelo. Estos experimentarán efectos en su salud por envenenamiento por Plomo. Los efectos sobre la salud de los crustáceos pueden tener lugar incluso cuando sólo hay pequeñas concentraciones de Plomo presente.

Las funciones en el fitoplancton pueden ser perturbadas cuando interfiere con el Plomo. El fitoplancton es una fuente importante de producción de oxígeno en mares y un elemento base de la cadena alimenticia en los océanos.

El análisis de la muestra se lleva a cabo mediante la aplicación del método 3020 A para la digestión de la muestra y el método 7010 para la cuantificación por medio de espectrometría de absorción atómica. ANEXO 4.

Preparación de la muestra



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

La muestra de tejidos orgánicos obtenida se digiere cuidadosamente con una mezcla de ácidos que asegura la extracción completa de los metales y la destrucción total del material orgánico. El residuo seco, se re-disuelve en una solución de ácido nítrico, se filtra o centrifuga si es necesario y se lleva para su lectura al espectrómetro. El método aquí descrito involucra una digestión ácida completa de los tejidos, una posterior filtración y ajuste del volumen extraído; finalmente, se realiza la cuantificación por una técnica espectrométrica de Absorción o Emisión Atómica Inductivamente Acoplada (ICPS).

Alcance y aplicación

Este método es aplicable a una gran variedad de tejidos biológicos, y permite detectar en el extracto concentraciones del orden de 10^{-6} a 10^{-7} g/l del metal en cuestión.

Toma de muestra, almacenamiento y preservación

Dependiendo del tipo de muestra a coleccionar (bivalvos ó poliquetos), y el hábitat (intermareal o submareal), se debe optar por el uso de draga para colecta de poliquetos o bivalvos de los fondos o la recolección manual si se trata de bivalvos del intermareal.

Se coleccionan bivalvos de alrededor de 5 y 6 cm, junto con una muestra de agua del lugar. Para obtener una muestra representativa es necesario establecer de antemano las especies, el género de los individuos, talla, edad o peso, y el tipo de tejido que se analizará (músculo, hígado, tejido graso, etc.).

Las muestras se coleccionan en bolsas plásticas dobles, previamente etiquetadas con el número de estación y número de ejemplares. Las bolsas deben sellarse y congeladas a -25°C (mediante la utilización de hielo seco), para el posterior análisis químico.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Preparación de la muestra

Las muestras congeladas deben ser puestas a descongelar durante la noche anterior poniéndolas en el refrigerador a una temperatura de -2 a 4°C (muestras parcialmente congeladas son más fáciles de cortar que las muestras completamente descongeladas o frescas).

- Se deben limpiar los cuchillos (plásticos), placas petri, pinzas (plásticas), tablas, con detergente y enjuagar con agua destilada o limpiar con agua de mar. Es necesario cubrir el área de trabajo con plástico limpio, realizar un lavado de manos con detergente y enjuagar con agua destilada.
- Se debe raspar por medio de un cuchillo de plástico o cepillo de plástico las zonas de las valvas (en el caso de bivalvos) con el objeto de retirar cualquier material adicionado a ellas. Trata de realizar un manejo mínimo del organismo.
- Enjuagar los organismos con agua destilada o de manera alternativa con agua de mar limpia dejando que el agua escurra.
- Extraer el biso del bivalvo hacia afuera sin cortarlo, pesar el individuo
- Insertar un segundo cuchillo de plástico limpio en la abertura desde donde sale el biso y cortar el músculo abductor, tratando de no romper las valvas del organismo, cuando el músculo se corta las valvas pueden abrirse fácilmente (Figura 29)
- Chequear si se ha eliminado el biso (Figura 30 b) completamente, si no fuera así se debe remover por medio de pinzas.

- Enjuagar las partes blandas dentro de las valvas con agua destilada.
- Soltar todos los tejidos mediante el segundo cuchillo utilizado, removiendo los tejidos desde las valvas. Tomando como precaución de tocar la parte externa de las valvas. (UNEP, 1984)

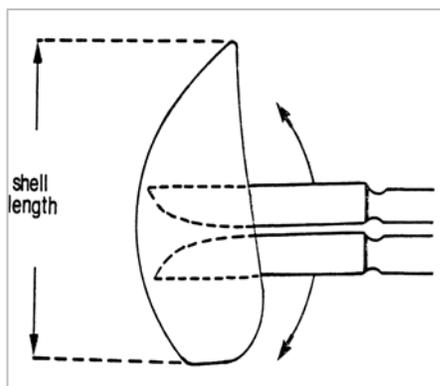


Figura 29. Corte del músculo abductor

Fuente: EPA, 1986

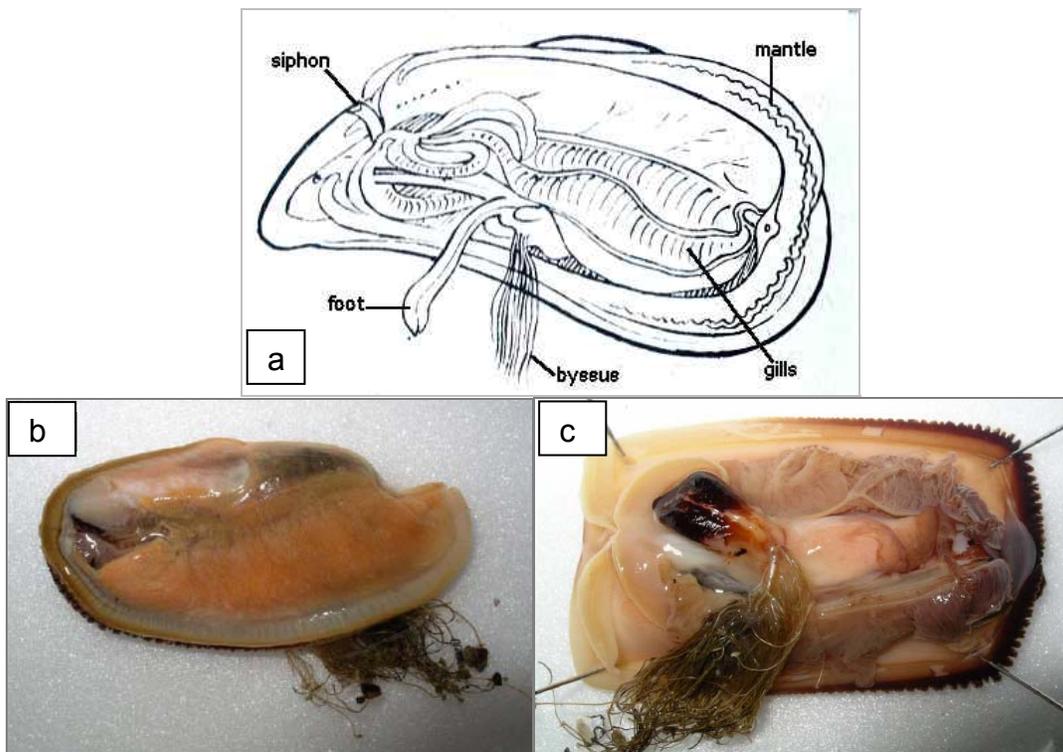


Figura 30. a. Bivalvo (*Mytilus sp*); b y c. Tejidos blandos

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

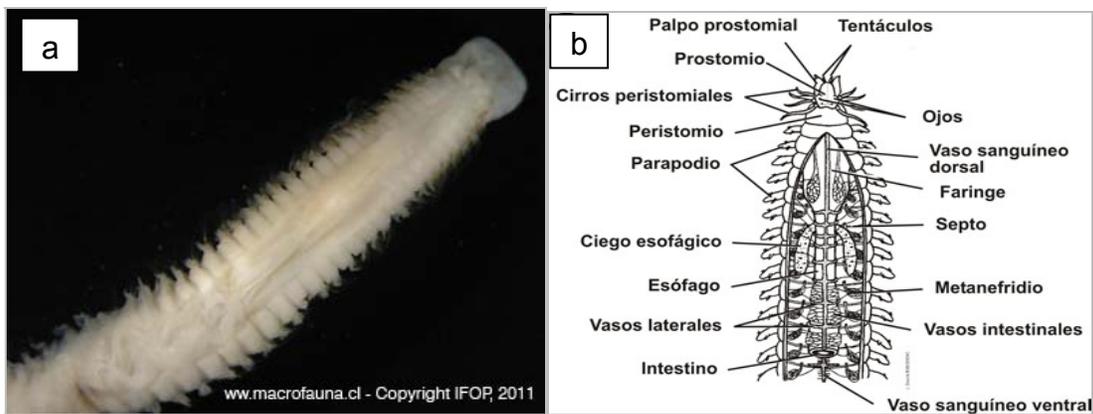


Figura 31. a. Poliquetos (*Nephtys impressa*); b. anatomía interna de poliqueto

Fuente: www.macrofauna.cl



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

a. *Muestra simple*: Pesar un recipiente vacío, disponer del tejido blando extraído y se vuelve a pesar. Cerrar el recipiente herméticamente y etiquetarlo con el código de la muestra. Determinar la longitud de las valvas.

b. *Muestra compuesta*: Llenar un recipiente conocido con al menos 10 partes de tejidos blandos de bivalvos¹⁷ preparados como se mencionó anteriormente, se vuelve a pesar el recipiente y se anota el peso de la composición de la muestra. Se homogeniza los especímenes licuando la muestra y se vuelve a depositar en el recipiente. Anotar el nuevo peso de la muestra licuada y homogenizada. Etiquetar el recipiente con el código de la muestra.

Análisis Químicos

La porción que será empleada para el análisis de los demás metales se seca en estufa a 60 °C. Una vez seca la muestra, se macera en mortero de porcelana y se almacena en frascos de vidrio, en un lugar fresco y oscuro hasta el análisis. Para el análisis de Hg se debe tomar una sub-muestra aparte la cual es conservada bajo refrigeración.

Para el análisis de Hg y Pb se seca la muestra con liofilizador a fin de evitar pérdidas por evaporación.

Materiales y equipos

- Espectrofotómetro de absorción atómica o espectrómetro de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente ICPS.
- Desionizador de agua

¹⁷ Se debe tener en cuenta cuando se prepara la muestra compuesta, que los individuos que se seleccionan debe presentar similar tamaño. Esto se verifica midiendo previamente la longitud de las valvas de los organismos antes de preparar la muestra y realizar la disección.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Embudos de separación de 500 y 2000 ml
- Beakers de 50, 100 y 250 ml
- Erlenmeyers de 125 ml
- Pipetas de 2, 5, 10 y 20 ml
- Balones aforados de 100 ml
- Balanza analítica
- Agitador magnético
- Cajas de petri
- Cucharas plásticas
- Sistema de secado al vacío (liofilizador)
- Papel filtro # 40
- Cuchillos plásticos blancos
- Embudos plásticos

Reactivos

- Agua libre de metales
- Ácido clorhídrico concentrado
- Ácido nítrico concentrado
- Ácido Perclórico concentrado – HClO₄: usar grado supra-puro o analítico
- Argón ultra-puro grado 5.0 (ICP)
- Acetileno y aire (Absorción atómica)
- Soluciones de referencia para cada metal (1g/l)

Procedimiento

- Pesar 0.5 g de muestra seca directamente en el tubo de digestión
- Agregar 3 ml de HNO₃ concentrado y 1.5 ml de HCl concentrado



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Colocar en el digestor a una temperatura de 180-190 °C (máximo 200 °C) durante 3 horas
- Dejar enfriar la muestra y filtrar o centrifugar
- Colectar el filtrado en balones volumétricos de 25 ml y completar volumen con HCl 0.1N
- Realizar la lectura o cuantificación del extracto por espectroscopia (Absorción o Emisión atómica, ICPS).

i. Calibración

Las soluciones de estándares deben ser preparadas empleando HCl 0.1N en el caso de organismos.

ii. Cálculos

Determinar la concentración de cada metal en microgramos por gramo, refiriéndose a la curva de calibración correspondiente.

$$C_m = \frac{C_e \times V_e}{W_m} \times f$$

C_m = Concentración de la muestra ($\mu\text{g/g}$)

C_e = Concentración del extracto en $\mu\text{g/ml}$

W_m = Peso de la muestra seca utilizada para el análisis en g

V_e = Volumen del extracto en ml

f = Factor de dilución



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

iii. Recomendaciones

Son aplicables las mismas recomendaciones dadas en el numeral. Si los valores de las muestras se encuentran por encima del rango de los estándares (curva de calibración), diluir la muestra con solución de HCl. 0.1 N y volver a analizar en el espectro. Aplicar el factor de dilución apropiado en los cálculos.}

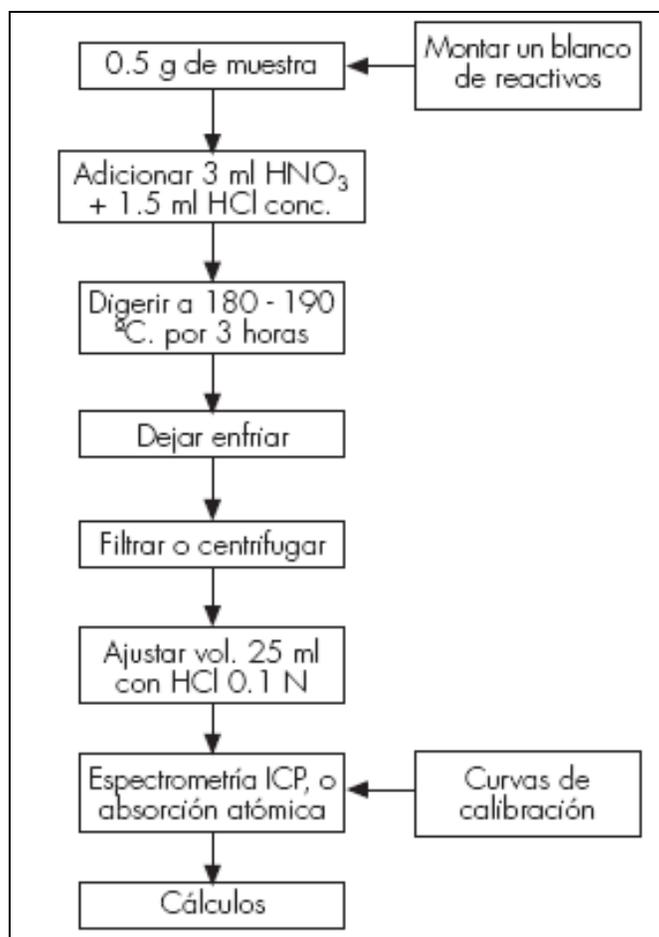


Figura 32. Diagrama de flujo para llevar a cabo el análisis de DDT en organismos marinos.

Fuente: INVEMAR, 2003



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

b. XILENO – 8021 B (AROMATIC AND HALOGENATED VOLATILES BY GAS CHROMATOGRAPHY USING PHOTOIONIZATION AND/OR ELECTROLYTIC CONDUCTIVITY DETECTORS) Ó 8260B (VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS BY GAS CHROMATOGRAPHY/ MASS SPECTROMETRY (GC/MS))

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) se originan de la combustión incompleta o pirólisis de la materia orgánica, por la actividad natural o antropogénica

Debido a sus propiedades carcinogénicas y mutagénicas los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) han sido estudiados ampliamente. La determinación de los HAP en tejidos de organismos marinos requiere de métodos adecuados para su extracción, identificación y cuantificación, ya que este tipo de matrices contiene mezclas complejas de compuestos de naturaleza lipofílica que interfieren en el análisis de los HAP. El procedimiento estándar para la determinación de estos compuestos consume mucho tiempo principalmente el paso de limpieza antes del análisis por GC y/o GC-MS.

La dificultad en la interpretación y comparación de los resultados en estas matrices (tejidos biológicos) se debe a que los HAP son lipofílicos (Christie 1987, Chu Fu-Lin et al.1997), por lo que la elección de la metodología analítica (procedimiento de extracción y limpieza) dependerá de las características físico-químicas de los analitos, el límite de detección requerido, el nivel y tipo de interferencias, la resolución que se requiere, precisión y exactitud de los instrumentos disponibles, tiempo de análisis y costo



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Independientemente de la matriz en donde se realice el análisis, se requiere la purificación del extracto para eliminar los compuestos interferentes antes del análisis cromatográfico

El análisis de HAP en organismos es particularmente difícil debido a la baja concentración de los compuestos individuales (algunos en ng/g) ya que generalmente la cantidad de materia disponible (algunos gramos) es limitada. El pretratamiento de la muestra antes del análisis cromatográfico es largo, en algunos casos el tiempo de extracción de los HAP dura hasta 56 horas (Al-Saad 1996), por lo que se requieren procesos de purificación y pre concentración más eficiente, confiable y rápida.

Recolección de muestras

Con una draga metálica tipo Van Veen y con ayuda de espátulas de acero inoxidable o plásticas enjuagadas con hexano, se recogen las muestras de sedimentos en bolsas plásticas de sello hermético, aunque es más aconsejable el uso de recipientes de vidrio tapados con papel aluminio, y se congelan hasta el momento del análisis.

Si la muestra es húmeda deberá ser congelada, pero si es seca, se puede almacenar indefinidamente.

Durante el secado no se deben sobrepasar los 60°C, para evitar la pérdida de los componentes más volátiles. Es mejor secar las muestras por liofilización o someter al proceso la muestra húmeda y tomar una submuestra para el cálculo de la humedad; si es necesario, se debe eliminar todos los organismos presentes a través de una maya de 250 mm antes de analizar la muestra.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Debe tenerse especial cuidado en la manipulación de las muestras en el interior de la embarcación porque suele haber gasolina y aceite lubricante que pueden contaminarlas.

Alcance

El presente método es utilizado para la determinación de hidrocarburos adsorbidos en sedimentos marinos y estuarinos.

Se proponen los siguientes métodos de análisis 8021 B (AROMATIC AND HALOGENATED VOLATILES BY GAS CHROMATOGRAPHY USING PHOTOIONIZATION AND/OR ELECTROLYTIC CONDUCTIVITY DETECTORS) o 8260B (VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS BY GAS CHROMATOGRAPHY/ MASS SPECTROMETRY (GC/MS)). ANEXO 15.

Los análisis deben tener un límite de cuantificación de 20 a 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (peso húmedo) para compuestos ácidos/base/neutros, 0,1 a 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (peso húmedo) para pesticidas y 1 a 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (peso húmedo) para PCBs.

Procedimiento

Preparación de la muestra

- Los extractos de tejidos contienen altas concentraciones de lípidos, por lo tanto se requiere una reducción en los niveles de macromoléculas biológicas por medio de las técnicas GPC (Gel – cromatografía de permeación) o HPLC (Cromatografía líquida de alta eficacia) previamente al análisis.
- Las muestras de tejido deben ser homogeneizadas previamente a la extracción, para asegurar que la alícuota necesaria para el análisis sea representativa del organismo y para mejorar la eficiencia de la extracción.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Las muestras que fueron congeladas para su preservación, deben ser descongeladas inmediatamente antes de la homogeneización. Al homogeneizar las muestras se debe incluir cualquier líquido que se encuentre presente con la muestra. Se debe procurar reducir al mínimo el manejo de la muestra durante este paso con el objetivo de reducir la contaminación.
- La muestra debe ser homogeneizada hasta alcanzar una pasta de consistencia pareja. Las muestras de mayor tamaño pueden ser cortadas en cubos de 2,5 cm con cuchillos de acero inoxidable.
- No deben quedar pedazos en la muestra, ya que estos no pueden ser extraídos o digeridos de manera eficiente. Una vez que se haya alcanzado la homogeneización de la muestra, esta debe ser congelada hasta su análisis.

En ocasiones puede que la cantidad de muestra disponible sea limitada para los análisis, para esto se recomienda realizar la homogeneización en el envase original de procedencia de la muestra, para evitar pérdida de muestra en el proceso de transferencia de esta de un recipiente a otro.

Por lo general una muestra de alrededor de 30 g, es adecuada para alcanzar los límites de detección recomendados y el límite de cuantificación del método a emplear (GC/MS) con instrumentación estándar.

La sensibilidad puede ser mejorada al reducir el volumen final del extracto de 1 a 0,5 ml y aumentando el volumen de inyección de la GC/MS de 1 a 2 μ L.

Una muestra de menor tamaño (3 g), puede ser adecuada si la sensibilidad del instrumento o el volumen de extracción se puedan ajustar adecuadamente.

Una cantidad de alrededor de 100 g (peso húmedo), se recomienda para las muestras que deben ser analizadas por duplicado.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Algunos laboratorios preparan las muestras antes de la extracción mediante trituración y homogeneización. Se puede aplicar sulfato de sodio para secar las muestras de tejido, esto también ayuda en el proceso de maceración del tejido.

Una vez que la muestra ha sido homogeneizada y secada con sulfato de sodio, se procede a la extracción (método 3540 Soxhlet). Se recomienda la utilización de un baño de hielo para evitar el calentamiento excesivo de la muestra y la consiguiente pérdida de compuestos volátiles.

Se debe llevar a cabo la cromatografía en gel de permeación para limpiar la muestra eliminando el contenido lipídico, luego de este procedimiento la muestra debe ser mantenida a 4°C durante la noche. Luego se procede a la filtración, esto permite que el exceso de lípidos se separe de la solución.

No se recomienda la utilización de ácidos fuertes para los extractos de los tejidos, para evitar la formación de emulsiones.

Análisis Instrumental

A continuación se indican las metodologías recomendadas para los analitos de interés:



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Tabla 10. Métodos recomendados para la determinación de VOCs

Fuente: US EPA, 1997

SW-846 Determinative Methods ¹	Analytes
8021	Volatile Organics by GC ELCD/PID
8040 ^a	Chlorinated phenols by GC/ECD
8061	Phthalate esters by GC/ECD
8081	Organochlorine pesticides and PCBs
8121	Chlorinated hydrocarbons by GC/ECD
8151	Chlorinated acid herbicides by GC/ECD
8260	Volatile organics by capillary GC/MS
8270	Semivolatile organics by capillary GC/MS
8290	Dioxins by high resolution GC/MS
9060 ^b	Total Organic Carbon
Additional non-SW-846 Methods	
EPA 1613	Dioxins by high resolution GC/MS
EPA 1625 ^c	Semivolatile organics by isotope dilution
EPA 1653	Chlorinated phenols, Guaiacols and Catechols
EPA 1668 Draft	Coplanar PCBs by high resolution GC/MS
Organics Chapter PSEP 1996	Organotins
Standard Method 5310B ^b	Total Organic Carbon

Notes:

- Note that throughout these guidelines, an SW-846 method reference refers to the latest promulgated revision of the method, even though the method number does not include the appropriate letter suffix.
 - Note that only the section of 8041 addressing the derivatization of the chlorophenols and the subsequent analysis by GC/ECD is appropriate for use on low-level marine samples.
 - See Appendix D for specific modifications that are required to use these methods.
 - Method 1625 is not currently being requested for most of the major programs in Puget Sound on a routine basis. Few laboratories are currently capable of performing the test due to the high cost of materials associated with this analysis. It is recommended that Method 1625 only be used for projects where previous samples have been analyzed by that method.

De acuerdo al método de determinación seleccionado ceñirse respecto de la metodología en ANEXO 15.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

c. PENTACLOROFENOL – U.S EPA, 1986 (GAS CROMATOGRAPHY OF EXTRACTABLES COMPOUNDS)(1625 EPA)

Este método está diseñado para la determinación de compuestos orgánicos semi-volátiles asociados al *Clean Water Act Section 301*, correspondiente a la ley primaria federal de Estados Unidos para gestionar la contaminación de las aguas.

Una variedad de compuestos pueden ser determinados en muestras de tejido de organismos estuarinos y de ambientes marinos por medio de este método.

Dentro del método se establecen dos opciones de la técnica GC/MS (cromatografía de gases/espectrometría de masa), por medio de dilución de isótopo GC/MS o por medio de la técnica de estándar interno GC/MS. En ambos casos, los procedimientos de laboratorio para la extracción y concentración de la muestra son idénticos. ANEXO 16.

Alcance

El límite de detección del método es dependiente del nivel de interferencias más que de las limitaciones instrumentales.

El límite de detección del método en base a peso húmedo es de 10 µg/kg para hidrocarburos aromáticos (análisis por GC/MS) y 10 – 20 µg/kg, para hidrocarburos clorinados y éter halogenados (análisis por GC/MS)

Materiales y Equipo

- Extractor Soxhlet
- Columna de secado
- Equipo Kuderna – Danish
- Frasco de evaporación
- Columna Snyder



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Embudo de separación
- Vaso de borosilicato
- Viales
- Balanza analítica
- Pipetas
- Espectrómetro de masa
- Cromatógrafo de gases
-

Reactivos

- Ácido acético
- Alumina – neutra
- Ácido Clorhídrico concentrado
- Hidróxido de potasio
- Sulfato de sodio
- Agua reactiva
- Solución calibración
- Solución estándar

Procedimiento

- Se realiza una maceración y homogeneización de 20 a 25 g de muestra de tejido, luego se procede a realizar la extracción mediante un Soxhlet, el extracto es secado en sulfato de sodio.
- Macromoléculas biológicas son removidas del extracto por medio de cromatografía en gel (GPC)



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Una porción del extracto (20 %) es sometida a cromatografía para separar compuestos polares desde pesticidas y PCBs, previo a la realización del análisis columna capilar GC/ECD.
- El extracto restante (80 %), es analizado por medio de columna capilar GC/MS
- Una dilución de isótopo es recomendada para todos los compuestos a analizar por medio de GC/MS
- La identificación de los compuestos es llevada a cabo mediante la comparación de los tiempos de retención de la GC, con los estándares



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

d. DDT – EPA, 1980

El método consiste en una extracción sólido – líquido continuo de los plaguicidas con acetonitrilo a temperatura ambiente y agitación constante. El extracto obtenido se concentra y se purifica con Florisil o con ácido sulfúrico concentrado, para luego ser concentrado y analizado por cromatografía de gases usando detector ECD. ANEXO 7.

Alcance y aplicación

El método es aplicable para la mayoría de las muestras de biopsias y tejidos (peces, aves y animales pequeños). Se pueden analizar tejidos y órganos como el hígado, tejido muscular, riñón, tejido suprarrenal y gónadas.

El rango óptimo de trabajo es 10^{-9} – 10^{-12} g, dado por la linealidad del detector. La mínima concentración que puede ser detectada es de 10^{-12} g y los siguientes compuestos pueden determinarse por este método: Clordano, α -BHC, β -BHC, Lindano, Heptacloro, Epoxido, p,p, - DDE, o,p, - DDE, Dieldrin, Endrin, o,p'-DDD, o,p'-DDD, o,p'-DDT.

Toma de muestra, almacenamiento y preservación

Los ejemplares capturados se clasifican y empacan en bolsas limpias de polietileno. El material orgánico se debe transportar refrigerado al laboratorio.

Si el análisis no se realiza inmediatamente, las muestras deben envolverse en papel aluminio y almacenarse congeladas entre -10 y -20 °C (mediante la aplicación de hielo seco), por un periodo no mayor de 60 días. Las muestras no deben ser almacenadas en lugares que estén guardando estándares, para evitar la contaminación.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Materiales y equipos

- Cromatógrafo de gases equipado con Detector de Captura Electrónica (ECD)
- Balanza analítica precisión +/- 0.00001 g
- Centrifuga
- Rotavaporador
- Concentrador Kuderna Danish
- Horno para secado
- Plancha de calentamiento
- Beakers de Pyrex de 100, 150, 200 y 1000 ml
- Probetas graduadas de 50, 100 y 250 ml
- Erlenmeyers de 125 y 250 ml
- Tubos de centrifuga de 50 ml
- Columna de vidrio 25 cm de largo x 1 cm de diámetro interno con llave de teflón
- Pipetas Pasteur
- Pipetas volumétricas de 1, 2, 5, y 10 ml
- Matraz aforado de 25, 50 y 100 ml
- Microjeringas de 10 μ l
- Desecadores
- Viales de 2 ó 5 ml con tapa rosca de teflón

Reactivos

- Gas nitrógeno (N₂) grado 4.5
- n-Hexano calidad pesticida
- n-Decano.
- Éter etílico



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Acetona
- Acetonitrilo.
- Metanol calidad pesticida
- Florisil PR, 60 - 100 Mesh
- Acido sulfúrico concentrado, libre de Hidrocarburos clorados (HC)
- Sulfato de sodio anhidro
- Estándares de pesticidas (Hidrocarburos clorados)

Precaución. Los compuestos estándares son altamente tóxicos y deben ser manejados con extremo cuidado para evitar contacto con la piel o inhalación.

Procedimiento

i.Extracción

- Si el material orgánico ha sido congelado se debe descongelar y esperar a que alcance la temperatura ambiente
- Pesar exactamente entre 2 – 5 g de muestra
- Tomar una submuestra para la determinación de humedad
- Extraer la misma cantidad de sulfato de sodio para el seguimiento de blanco de reactivos
- Colocar en una licuadora con 20 ml de acetonitrilo y homogenizar por 5 min
- Poner en agitación constante a temperatura ambiente por 3 minutos
- Centrifugar la muestra y recuperar el extracto
- Repetir la extracción dos veces más, colectando los sobrenadantes en un erlenmeyer
- Transvasar el extracto a un embudo de separación de 250 ml
- Agregar 250 ml de solución acuosa de Na₂SO₄ al 2%, agitar fuertemente y dejar en reposo por 10 minutos



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Extraer la mezcla de acetonitrilo acuoso con una porción de 50 y dos de 20 ml de hexano.
- Combinar los extractos en un erlenmeyer, adicionar Na_2SO_4 anhidro. Agitar y dejar en reposo
- Concentrar el extracto en rotavapor hasta 2 ml aproximadamente y depositarlo con pipeta Pasteur en viales pequeños

ii. Preparación de la columna de Florisil

- La cromatografía de columna se prepara empleando una columna de vidrio de 25 cm de alto y de 1.0 cm de diámetro interno
- Enjuagar las columnas para fraccionar con acetona y colocar en la estufa a 110°C
- En el extremo inferior, fijar una pieza de lana de vidrio, para retener el adsorbente
- Agregar 16 g de Florisil y adicionar 1.0 cm de sulfato de sodio sobre el nivel de Florisil
- Lavar la columna haciendo pasar 50 ml de n-hexano, seguido de 50 ml de metanol
- Dejar secar a temperatura ambiente por una hora, y calentarlas en horno a 130°C por una noche antes de utilizarlas
- Después de 12 horas sacar las columnas y dejarlas reposar a temperatura ambiente

iii. Purificación en columna de Florisil

- Una vez esté fría la columna de fraccionamiento, pre-humedecerla con 10 ml de hexano. Este hexano se desecha



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- Transferir el extracto concentrado a la parte superior de la columna de Florisil con la ayuda de una pipeta Pasteur. Simultáneamente, comenzar a recoger el eluyente en un erlenmeyer
- Enjuagar el vial donde estaba el extracto con hexano y agregar los enjuagues a la columna; repetir este procedimiento dos veces
- Eluir utilizando 12 ml de hexano seguido por 12 ml de metanol al 1% en hexano. Estos 24 ml representan la fracción F1 y contendrán: heptacloro, aldrin, p,p, - DDE, o,p'-DDT, y p,p'-DDT; también pueden aparecer en pequeñas cantidades: p,p'-DDD y a-BHC
- Colectar una segunda fracción F2, por elución de otros 12 ml de metanol al 1% en hexano.

Esta fracción contendrá: a-BHC, lindano, heptacloro epóxido, dieldrin, endrin y p,p'-DDD

- Concentrar cada fracción en rotavapor hasta 2 ml aproximadamente y depositar con pipeta Pasteur en viales pequeños
- Adicionar suficiente cobre o mercurio metálico para desulfurar el extracto

iv. Cuantificación

La cuantificación de cada pesticida se realiza a través de un análisis por cromatografía de gases; los extractos secos de las muestras, se reconstituyen con 25 - 100 μ l de n-Decano (nC10), y se inyecta 0.5 μ l en el cromatógrafo de gases con detector ECD.

v. Calibración o Ajuste

El proceso de calibración es idéntico al descrito en el numeral 6.1 g – vi



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

vi. Cálculos

Identificados los picos del cromatograma, con las áreas reportadas se procede a calcular la concentración del compuesto *i* en el extracto, de la siguiente forma:

$$C_i = \frac{\text{Área} - b}{m}$$

Y = Área = Área del pico reportado por el cromatograma

X = C_i = Concentración de la sustancia *i* en el extracto (pg/ μ l)

m = Pendiente de la curva de regresión

b = Intercepto

La concentración de la sustancia *i* en la muestra sería:

$$ng / g = \frac{C_i \times V_e \times 0.001}{W}$$

C_i = Concentración de la sustancia *i* en el extracto de muestra (pg/ μ l)

V_e = Volumen final del extracto (50 μ l)

W = Peso de muestra seca sometida a análisis (g)

vi. Recomendaciones

Se debe llevar un blanco de reactivos a través de todos los pasos del método

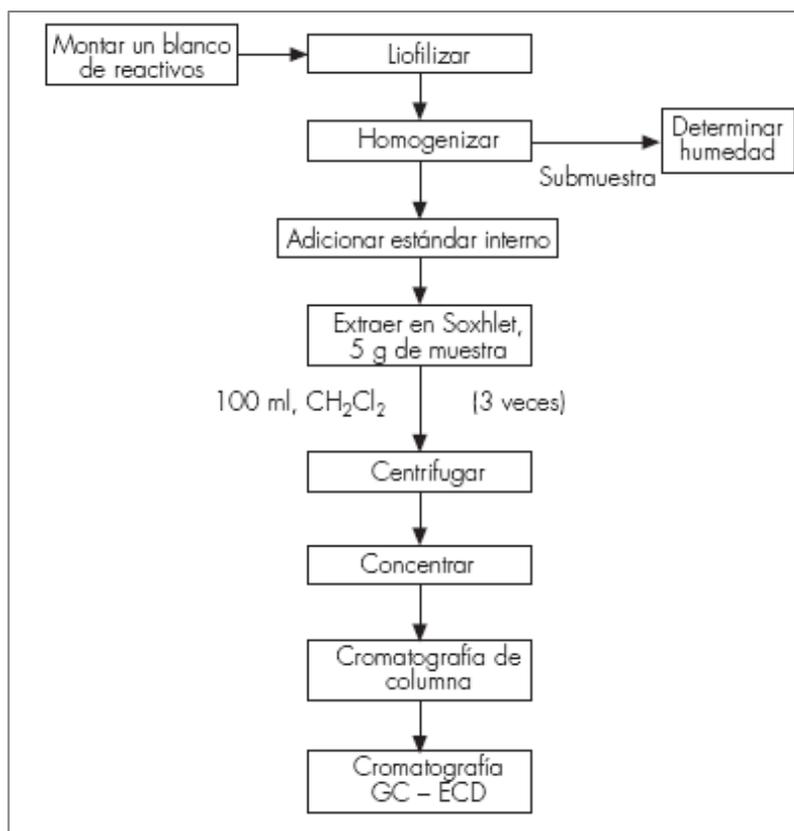


Figura 33. Diagrama de flujo para llevar a cabo el análisis de DDT en organismos marinos.

Fuente: INVEMAR, 2003



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

8. PROPUESTA DE ESPECIES MARINAS PARA EL MONITOREO

La contaminación de aguas y sedimentos costeros marinos, reviste un carácter crítico en la actualidad. Como consecuencia, el desarrollo de programas de monitoreo de contaminantes acuáticos es clave para su control, ya que si no conoce el grado de contaminación, cualquier intento de regular los impactos de ella fracasarán.

La bioacumulación consiste en la capacidad de los organismos de acumular selectivamente contaminantes en sus tejidos respecto de las concentraciones existentes en el medio en que habitan (The Royal Society, 1979; Riisgard *et al.*, 1985; International Programme on Chemical Safety, IPCS, 1989).

La bioacumulación de compuestos tóxicos, depende de la biodisponibilidad del contaminante: 1) la movilización de los metales en las aguas intersticiales y su especiación química; 2) transformación (p. ej., metilación) de metales como As, Hg, Pb y Sn; 3) control ejercido por los componentes de los sedimentos (p. ej., óxido de hierro y materia orgánica); 4) competencia entre metales, como Cu, Ag, Zn y Cd por posiciones de ingreso en los organismos, y 5) los efectos de la bioperturbación, salinidad, coeficiente de redox y pH.

Debido al potencial de organismos marinos, especialmente algas e invertebrados que concentran metales traza, se ha sugerido su uso como organismos de vigilancia o monitoreo en ambientes estuarinos y costeros, ya que permiten integrar espacial y temporalmente las variaciones ambientales de estos metales (Lobban *et al.*, 1985; White y Rainbow, 1987; Sharp *et al.*, 1988; Díaz, *et al.*, 1993).



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Los metales pesados se asimilan o se toleran selectivamente. Baudo (En: Lewis, 1990) encontró acumulación de Cu en ostiones, pero no en su depredador perforador el gasterópodo *Urosalpinx cinerea*. También existe una distribución diferencial en los tejidos; Horiguchi *et al.*, (2004) encontraron diferentes concentraciones de TBT (tributiltin) en los tejidos de bivalvos, con biomagnificación hasta de 10 000 veces los valores en el agua. En particular el DDT y sus derivados tienden a alcanzar concentraciones muy elevadas; en bivalvos comerciales, como ostiones, almejas y choritos; Allsopp y Erry (2000) registraron concentraciones de 0.39 a 42 900 ppb. Por otro lado, los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) se acumulan en forma proporcional a sus concentraciones en los sedimentos.

Los metales pesados se han asociado con una serie de modificaciones y adaptaciones fisiológicas en los moluscos, 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. En: Lewis, 1990), modificando la naturaleza y contenido de proteínas en los tejidos (Shapiro y Zvezdovskaya, 1986. En: Lewis, 1990), conjuntamente a un incremento en metalotioneina, agente de enlace (Steinert y Pickwell, 1988. En: Lewis, 1990).

La tolerancia y adaptabilidad de los moluscos, en particular algunos bivalvos, los han situado como los organismos preferidos en el monitoreo de la presencia de contaminantes e indicadores de la calidad de los ecosistemas. Los bivalvos como filtradores y algunos gasterópodos como herbívoros responden, cada uno, a una fracción particular del cuerpo de agua (Conti y Cecchetti, 2003).



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOSCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Borchardt *et al.*, (1988), establecieron que una serie de variables juegan un rol significativo en el proceso de acumulación de un elemento traza en un individuo y en estudios relacionados con organismos monitores de contaminación. Tales variables lo constituyen la naturaleza biológica (talla, sexo, posición del organismo en la cadena trófica, relaciones genéticas entre poblaciones etc.) y ambientales (calidad del agua, calidad y cantidad de alimento y otros). Estos autores, en un trabajo tendiente a medir la concentración de elementos traza, entre ellos mercurio, en *Mytilus edulis* recolectado en regiones estuarinas y costeras, establecieron que el nivel del elemento está influenciado por parámetros tales como; el período de muestreo, la talla de los organismos y su condición corporal.

Estudios realizados en variadas especies de organismos marinos, concluyen que la concentración de mercurio aumenta en la misma proporción en que aumenta la edad del individuo y varía según el sexo. En algunas especies de machos se han encontrado niveles de mercurio superiores a los medidos en hembras (IPCS, 1989). Kayrallah (1985), estudió el efecto tanto del cloruro de mercurio como del metilmercurio en el anfípodo *Bathyporeia pilosa*, estableciendo que la toxicidad estaba directamente relacionada con la concentración del compuesto y con la edad de los organismos. Minganti *et al.*, (1990), en un trabajo realizado en *Nephtys norvegicus* recolectado en el mar de Liguria, encontraron diferencias significativas en las concentraciones de mercurio total y orgánico en ambos sexos, hecho que fue atribuido a diferencias en la edad.

Por otra parte, Hight (1987) y Hight y Corcoran (1987), establecieron que los moluscos bivalvos son entre los organismos marinos, el grupo más recomendado para su uso como organismos monitores de contaminación acuática. Estos organismos juegan un rol esencial en los estudios relacionados con la evaluación de la calidad del ambiente marino (The Royal Society 1979, Riisgard *et al.*, 1985 y Phillips, 1990).



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Como medio para identificar las fuentes de contaminación en los estuarios de Australia, Lincon-Smith y Cooper (2002) emplearon las diferentes concentraciones de metales pesados en ostiones. En 1985 se inició en los Estados Unidos de América el programa Mussel Watch que tenía como objetivo el monitoreo de la calidad de los cuerpos de agua interiores y costeros a través del estado de salud y presencia de contaminantes en diferentes bivalvos: *Mytilus edulis* y *Crassostrea virginica* en la costa del este, *C. virginica* en la del Golfo, *C. rhizophorae* en el Caribe, *M. edulis* y *M. californianus* en la costa oeste y en Alaska, y el mejillón zebra, *Dreissena polymorpha*, en los Grandes Lagos. Este programa se extendió a otros países del mundo con técnicas de muestreo y evaluación de poblaciones y el análisis estandarizado para la determinación de los diferentes tipos de contaminantes en tejidos orgánicos.

En el medio marino los bivalvos podrían ser utilizados como centinelas del ingreso de contaminantes en el área en que habitan por ser representativos de lo que sucede en una región determinada (Bonilla, 1999). Para que un organismo tales elegido como marcador en pruebas de toxicidad es deseable que presente características como extensa distribución geográfica, soportar variados intervalos de temperatura y salinidad, fácil recolección y que exista un amplio conocimiento científico de sus procesos biológicos (Casado-Martínez, 2006).

Por otra parte, los sedimentos en ambientes marinos son capaces de acumular contaminantes tales como metales pesados y sustancias orgánicas; en general, ingresan al sistema como residuos de la actividad industrial, urbana y transporte global. Entre los metales más estudiados por su efecto deletéreo en el medio se encuentran las sales de cobre, cadmio, zinc, plomo y mercurio (Ruiz *et al.*, 1991).



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOSCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Estas sustancias, una vez vertidas al ambiente, pueden sufrir procesos como transporte, especiación, movilización y transformación de sus formas tanto químicas y/o físicas, las que en consecuencia podrían ser incorporadas a las cadenas tróficas dependiendo de su biodisponibilidad (Allen y Hansen, 1996). En éste tipo de ambientes organismos como los poliquetos que habitan sedimentos marinos, pueden ser considerados como organismos centinela para compuestos contaminantes acumulados en sedimentos.

Este taxón es comúnmente utilizado en programas de vigilancia ambiental en diferentes partes del mundo (Bellan, 1980; Raman y Ganapati, 1983; Bellan *et al.*, 1988; Pocklington y Wells, 1992), y ha sido incorporado en una amplia gama de estudios de evaluación de impacto ambiental.

Dentro de este tipo de estudios, los poliquetos han sido utilizados como material biológico en bioensayos ecotoxicológicos a nivel larval o utilizando cepas de individuos adultos (Reish, 1998), o como indicadores de bioacumulación, del estado de salud de los sedimentos submareales, o de contaminación a través del análisis de variables comunitarias (Pocklington y Wells, 1992).

También se han utilizado para determinar el estado de salud de las comunidades submareales de fondos blandos en numerosas localidades costeras de pequeño tamaño como bahías, debido a que son el taxón normalmente dominante tanto en abundancia como en el número de especies. La presencia o ausencia de algunas especies provee un mecanismo para determinar el estado de salud de estas comunidades (Dauer y Connor, 1980; Pocklington y Wells, 1992; Cañete, 1999).



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Se presenta a continuación una breve revisión de antecedentes científicos nacionales, referidos principalmente a estudios para la evidencia de contaminación en organismos marinos de la costa chilena.

Los antecedentes revisados dan luz acerca de la mejor aproximación para la definición de organismos centinelas para el monitoreo ya sea de metales u otros compuestos orgánicos relevantes de ser vigilados.

Tabla 11. Antecedentes revisados

Título	Año	Autor	Revista
“Nivel de metales traza en tejidos de organismos Bentónicos en Bahía San Vicente, Chile”.	1993	Ahumada, R.	Libro Resúmenes XIII Jornadas Ciencias del Mar. Viña del Mar. Pág. 43-44.
“Efecto del cobre, hierro y manganeso en comunidades bentónicas de fondos blandos de bahías Flamenco, Inglesa, Salado y Huasco”	1999	Ardiles, V. y J. Inda	Libro resumen XXI Congreso de Ciencias del Mar. Viña del Mar. Pág. 8.
“Determinación letales de cobre en el camarón de río del Norte (<i>Cryphiops caementarius</i> Molina, 1782)”	1985	Barbagelata Olgay, Mariella Lacazette Pinto, Leticia	1985 Universidad de Antofagasta, Instituto de Investigaciones Oceanológicas. Requisito para el Título de Ingeniero de Ejecución en Acuicultura.
“Determinación de Cadmio en <i>Macrocystis pyrifera</i> , <i>Cancer coronatus</i> y <i>Aulacomya ater</i> del Sector Lirquén, Bahía Concepción, Chile”	1993	Beltrán C., Manríquez E., Soto M.y Fernández E	Libro Resúmenes XIII Jornadas Ciencias del Mar. Viña del Mar. Página 51

Continuación **Tabla 11**

“Evaluación preliminar de la presencia de metales pesados en recursos pesqueros de importancia comercial de la III región de Chile”	1987	Bore, D.; Robotham, H.; Trucco, R.; Fernandez, M.L. y J. Inda	1987. Informe final, Universidad Católica del Norte.
“Cd, Cu and Fe levels in Mesodesma donacium of the El Faro, Peñuelas and Morrillos Beaches, IV Region, Chile”	1994	Cárdenas, T.; Trucco, R. & J. Inda	The Science of the Total Environment 142: 207- 211
“Respuesta del Crecimiento de Larvas de <i>Cancer polydon</i> expuestas a Cobre, Manganeso y Hierro”	1993	Cárdenas T., Trucco R. y Inda J	Libro Resúmenes XIII Jornadas Ciencias del Mar. Viña del Mar. Págs. 55-56
“Cuantificación de los niveles de cobre y su relación con la variabilidad que presenta la macroinfauna bentónica de bahía Coquimbo (29°56’S – 71°18’W)”	1995	Cuturrufo, G., Inda J., Fernández, M.L., Trucco, R.G. y G. Torrejón	Libro resumen XV Jornadas de Ciencias. Coquimbo. Pág. 119.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Continuación **Tabla 11**

“Programa de Monitoreo versus Programa de Biomonitorio del Ambiente Acuático”	1998	Chuecas L. En D. Arcos (Ed.)	Minería del cobre, ecología y ambiente Costero. Editora Aníbal Pinto S.A. Chile. 1998. Págs. 407-449
“Concentraciones de Cd, Pb, Cu, Hg y Zn en Bahía Huasco e Influencia del Río y Sedimentación Aérea”	1999	Fernández E., Pesenti E. y Sánchez I	Libro Resúmenes XIX Congreso de Ciencias del Mar. Antofagasta. Página 107
“Determinación de contaminantes en el medio marino. Análisis de Metales Pesados”	1994	Fernández M.	Libro de pre edición. Universidad Católica del Norte, Facultad de Ciencias del Mar. Págs. 236- 244
“Caracterización de las Poblaciones de <i>E. analoga</i> que Habitan Playas del Litoral de Antofagasta, con Diferente Contenido de Cobre en Sedimentos	1995	Furet L, Lépez I., Aracena O., Camaño A. y Vargas F.	Libro Resúmenes XV Jornadas de Ciencias del Mar. Coquimbo. Página 59

Continuación **Tabla 11**

“Metales Pesados en una Cadena Trófica Bentónico-Demersales: Antecedentes Preliminares”	1994	González F., Silva M., Schalscha E. y Becerra J.	Libro Resúmenes XIV Jornadas Ciencias del Mar. Puerto Montt. Página 89.
“Metales Pesados en los Sedimentos y en la Biota del Golfo de Arauco”	1995	González F., Silva M., Schalscha E. y Becerra J.	Libro Resúmenes XV Jornadas de Ciencias del Mar. Coquimbo. Página 62
“Determinación del Contenido de Metales Pesados (Cd, Cu, Pb y Zn) en <i>Durvillaea antarctica</i> (Chamizo) Arito, en la Desembocadura del Río Bío-Bío y Bahía Coliumo, VIII Región, Concepción, Chile	2001	Gutiérrez P., Salamanca M. y Alveal K	Libro Resúmenes XXI Congreso de Ciencias del Mar. Viña del Mar. Página 45
“Concentración de cobre en tejidos blandos de <i>Perumytilus purpuratus</i> y <i>Pyura praeputialis</i> en Punta Coloso, Antofagasta, Chile”	1998	Hernández A. y Mauricio Landaeta. En D. Arcos (Ed.)	Minería del cobre, Ecología y ambiente costero. Editora Aníbal Pinto S.A. Chile. 1998. Págs. 333-348

Continuación **Tabla 11**

“Metales pesados en <i>Xanthochorus cassidiformis</i> extraídos en las bahías de Coquimbo, La Herradura y Tongoy, Chile”	1993	Inda, J.; Bakulic, Y.; Cortes- Monroy, J. y G. Villalón	Facultad de Ciencias del Mar. Universidad Católica del Norte. Serie Ocasional 2: 93-98
“Cambios en Comunidades Meiobénticas Asociadas a Relaves de Cobre en el Norte de Chile”	1997	Lee M.	Libro Resúmenes XVII Congreso Ciencias del Mar. Santiago. Págs. 113-114
“Impacto Ambiental por Relaves de Cobre en Comunidades Intermareales Rocosas de la III Región ”	1992	Miethke S., Castilla J.C. y Oliva D	Libro Resúmenes XII Jornadas Ciencias del Mar. Santiago. Página 76
“Estimación de los Flujos de Pb a los Sedimentos y su Acumulación en Organismos Bentónicos (<i>P. pinnata</i>) en Bahía Concepción”	2000	Muñoz P. y Salamanca M.A	Libro Resúmenes XX Congreso de Ciencias del Mar. Concepción. Página 155
“Evaluación del Contenido de Cobre-Metalotioneínas en Poblaciones Naturales y Transplantes de <i>Perumytilus purpuratus</i> en la Bahía San Jorge (II Región-Chile) ”	2000	Riveros A., Zúñiga M., Camaño A. y Román D	Libro Resúmenes XX Congreso de Ciencias del Mar. Concepción. Págs. 185- 186

Continuación **Tabla 11**

“Estudio Preliminar del contenido de Metales Pesados (Cu, Pb, Zn y Hg) en agua del mar y en <i>Perumytilus purpuratus</i> , en Bahía San Jorge, Antofagasta”	1997	Rodríguez Herrera, Tatiana	Universidad de Antofagasta, Facultad De Recursos del Mar, Depto. de Acuicultura. Requisito para optar al Título de Ingeniero en Acuicultura.
Contenido de Cu, Pb y Zn en <i>Perumytilus purpuratus</i> (“Choritos Maico”) en la Zona Costera del Litoral de Antofagasta, II Región. Chile	1999	Salamanca M., A.Camaño T. Rodríguez y B. Jara	Libro Resúmenes XIX Congreso de Ciencias del Mar. Pág. 47
“Bioacumulación de Arsénico en diferentes tallas de la macha (<i>Mesodesma donacium</i> Lamarck, 1818) (Mollusca: Mesodesmatidae) de la bahía de Coquimbo, IV Región	2000	Troncoso, S. y J. Inda	Libro resumen XX Congreso de Ciencias del Mar. Concepción. Pág. 202.
“Análisis de las Concentraciones de Metales Traza en la Biota y Sedimentos en Bahía San Vicente”	1994	Vargas F., Furet L. y Arcos, D.	Libro Resúmenes XIV Jornadas Ciencias del Mar. Puerto Montt. Págs. 124-125.

Continuación **Tabla 11**

<p>“Utilización de la Almeja <i>Protothaca thaca</i> para la Evaluación de la Calidad de Sedimentos Marinos alrededor del Puerto de Embarque de Concentrado de Cobre de Minera Escondida Limitada”</p>	<p>2000</p>	<p>Zúñiga M., Espinoza C. y Camaño A</p>	<p>Libro Resúmenes XX Congreso de Ciencias del Mar. Concepción. Página 218</p>
<p>“Niveles de concentración e índice de bioacumulación para metales pesados (Cd, Cr, Hg, Ni, Cu, Pb y Zn) en tejidos de invertebrados bénticos de Bahía San Vicente, Chile”</p>	<p>1994</p>	<p>Ahumada, R</p>	<p>Revista de Biología Marina, Valparaíso. 29 (1) :77 - 87</p>
<p>Metales trazas en aguas costeras y organismos de canales y fiordos australes</p>	<p>2006</p>	<p>Ramón Ahumada, Lorena Gerli, Iris Sánchez & Eduardo Fernández</p>	<p>Comité Oceanográfico Nacional - Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, pp. 45-49, 2006.</p>

Continuación **Tabla 11**

<p>Influencia de variables estacionales, espaciales, biológicas y ambientales en la bioacumulación de mercurio total y metilmercurio en <i>Tagelus dombeii</i></p>	<p>2001</p>	<p>Oscar Díaz, Francisco Encina, Lizandro Chuecas, José Becerra, José Cabello Angélica Figueroa y Franz Muñoz</p>	<p>Revista de Biología Marina y Oceanografía 36 (1): 15 – 29</p>
<p>Proposición de un índice de vigilancia ambiental basado en la variabilidad temporal de la abundancia de dos especies de poliquetos bentónicos de bahía Quintero, Chile</p>	<p>2000</p>	<p>Juan I. Cañete, Gerardo L. Leighton y Eulogio H. Soto</p>	<p>Revista de Biología Marina y Oceanografía 35 (2): 185 - 194</p>
<p>“Indicadores biológicos de ecosistemas marinos de fondos blandos y su importancia en los programas de monitoreo ambiental”</p>	<p>1999</p>	<p>Eulogio soto gerardo leighton</p>	<p>VI Jornadas del CONAPHI-CHILE</p>



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Continuación **Tabla 11**

Flujo de plomo particulado a los sedimentos marinos y su incorporación en <i>paraprionospio pinnata</i> (polychaeta: spionidae) en bahía concepción (36° lat. s), chile	2001	Práxedes Muñoz & Marco Salamanca	Gayana (Concepc.) v.65 n.2
The use of polychaetes (Annelida) as indicator species of marine pollution: a review	2008	Harlan K. Dean	Rev. Biol. Trop. (Int. J. Trop. Biol. ISSN-0034-7744) Vol. 56 (Suppl. 4): 11-38

Aun cuando la mayoría de los estudios se restringen a la evaluación de los niveles de concentración de metales pesados en sedimentos y organismos, existe alguna evidencia de los efectos de estos vertidos en la estructura y organización de poblaciones y comunidades marinas costeras.

Las respuestas a la contaminación pueden advertirse tanto en individuos como en poblaciones y pueden ser manifestación de modificaciones en comportamiento, fisiología o simple tolerancia o intolerancia a los contaminantes.

Algunas especies de bivalvos como *Dreissena polymorpha* y *Mytilus edulis* se liberan de su biso cuando se ven sometidos a agentes irritantes, permitiendo ser arrastrados por las corrientes (Gundacker, 1994; Almeida *et al.*, 2003), al igual que algunos bivalvos de la zona litoral que aprovechan las corrientes litorales y el oleaje para reubicarse (Van Eps, 1982). Asimismo, es bien conocida su capacidad de aislarse por varias horas con el cierre hermético de las valvas, cuando las



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOSCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

condiciones ambientales se vuelven adversas, habiéndose demostrado este comportamiento tanto ante el estímulo de factores naturales como antropogénicos (Loosanoff y Tommers, 1948; Loosanoff, 1962; Galtsoff, 1964).

Klerks y Weis (1987) hicieron una revisión profunda de la persistencia de poblaciones de moluscos en aguas contaminadas. Para ello identificaron 3 estrategias: tolerancia, aclimatación y adaptación, las que pueden adquirirse por la exposición a concentraciones subletales durante etapas previas de la vida de los organismos. De acuerdo con estos autores, las poblaciones pueden haber evolucionado resistencia genética por medio de selección natural de individuos con resistencias diferenciales.

Esta tolerancia se manifiesta en la composición de las comunidades en los ecosistemas contaminados.

De acuerdo a la sobrevivencia Sorprende la tolerancia a la contaminación de algunos moluscos que se encuentran en ambientes donde otros grupos ya han desaparecido. Junto con los anélidos, los moluscos pueden llegar a constituir el 97% de la diversidad con un predominio del 48% (Je *et al.*, 2004).

Diferentes especies han manifestado diferentes respuestas para cada tipo de contaminante. En términos generales, la bioacumulación y biomagnificación se dan cuando los contaminantes no interfieren con procesos vitales o las concentraciones son suficientemente bajas para permitir la tolerancia, aclimatación o adaptación del organismo.

La determinación de los contaminantes en los tejidos de los moluscos es un indicador indiscutible de su presencia en el medio, en particular cuando sus



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

concentraciones no son constantes o muy elevadas y su detección en agua o sedimentos se dificulta. Asimismo, la disminución en el potencial reproductor, estado fisiológico o índice de condición de las poblaciones son indicadores de la presencia de contaminantes. Más se ha visto que la acumulación de los contaminantes es selectiva y por lo tanto no todo contaminante puede advertirse a través de los análisis de moluscos.

Sin embargo, hay otros indicadores ambientales que pueden servir para la determinación de impacto ambiental por contaminación y diferentes actividades humanas; esto es, a través de los cambios en la estructura de una población de moluscos.

Por otra parte los Poliquetos han sido por mucho tiempo seleccionados como organismos representativos de la salud de las comunidades bentónicas en general, ya que ellos son el taxón más abundante de éste hábitat.

Adicionalmente, a diferencia de organismos del nekton o reptantes, los poliquetos viven enterrados en los sedimentos o adheridos a superficies, mientras los estadios larvarios son capaces de transportarse por grandes distancias, los estadios adultos son relativamente inertes.

Esta relativa inmovilidad, asegura una exposición crónica de estos organismos a materiales tóxicos presentes en el medio ambiente. Cualquier cambio en la salud del bentos puede verse reflejada en la comunidad de poliquetos (Papageorgiou *et al.*, 2006).

Las características de la historia de vida de estos organismos, hacen de ellos una oportunidad para su utilización como organismos indicadores. La duración de un ciclo completo de vida de variadas especies de poliquetos está entre el orden de días a semanas, las tasas de reproducción pueden ser altas, ambos factores



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOSCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

pueden permitir una rápida respuesta poblacional a cambios en el medio ambiente del bentos tales como la entrada de contaminantes o material orgánico.

Se debe considerar a los organismos invertebrados de ecosistemas marinos de fondos blandos, como potenciales bioacumuladores de sustancias tóxicas y como vectores o traspasadores de dichas sustancias, a organismos que sí constituyen recursos (mediante predación) y que son consumidos por la población humana.

De acuerdo a la literatura nacional revisada, basada en las experiencias analíticas para evidenciar la presencia de contaminantes en organismos marinos, es posible proponer para la vigilancia ambiental al bivalvo *Mitylus chilensis* (Hupé, 1854, Bivalvia), (Tabla 12), para ambientes intermareales y submareales y al poliqueto *Nephtys impressa* (Género *Nephtys*, Cuvier, 1817), para sedimentos marinos y en el caso de ambientes con ausencia de bivalvos (Tabla 13).

Tabla 12. Ficha descriptiva de la especie *Mytilus Chilensis* (Hupé, 1854)

Especie	Descripción
<p data-bbox="285 961 683 999"><i>Mytilus Chilensis</i> (Hupé, 1854)</p> 	<p data-bbox="735 663 1347 999">En Chile, los Choritos (<i>Mytilus Chilensis</i>) se encuentran en forma natural desde Iquique hasta el Estrecho de Magallanes, encontrándose principalmente en zonas de baja salinidad especialmente en sectores estuarinos-salobres, donde se mezcla el agua dulce con agua de mar.</p> <p data-bbox="735 1016 1347 1755">Los mitílidos poseen un conjunto de filamentos negros-café denominados “biso”, a través del cual tiene la capacidad de mantenerse fijo a sustratos tales como: rocas, piedras, cuerdas, cascos de barcos e incluso en ciertos lugares de fango o arena. Un mitílido que se desprende del sustrato puede volver a fijarse a otro, debido a que tiene la capacidad de regenerar el biso. <i>Mytilus Chilensis</i> (Hupe, 1854), pertenece a la clase Bivalvia y familia <i>Mytilidae</i>, posee una concha de dos valvas, de tamaño alargado-mediano (máximo 85 mm), valvas provistas de estrías concéntricas de crecimiento y recubierta de un periostraco pardo, negruzco o violáceo. La Charnela está</p>



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

provista de numerosos dientecillos similares, generalmente visibles a simple vista. La superficie interna es nacarada y de color violáceo.

En algunos mitílidos, la diferencia de sexo entre hembras y machos está dada por el color de las gónadas (órganos reproductores), sin embargo, en el Chorito las gónadas son de color crema-amarillento evidenciándose la diferencia solo bajo observación bajo lupa estereoscópica. Normalmente, los mitílidos maduran sexualmente durante el primer año de vida en la época de primavera-verano; siempre y cuando, exista una adecuada cantidad de alimento y condiciones ambientales que permitan la formación de gametos (óvulos por las hembras y espermios por los machos). Estos óvulos y espermios, son liberados al agua, donde se produce la fertilización y comienza el desarrollo de un nuevo individuo, el cual va pasando por diferentes estados larvales Hasta alcanzar un estado denominado postlarva. La postlarva se caracteriza por poseer un tamaño menor a 1 mm, un pie móvil, mancha ocular y un velo que con el tiempo se va perdiendo. El pie le ayuda a desplazarse para buscar sustratos; al



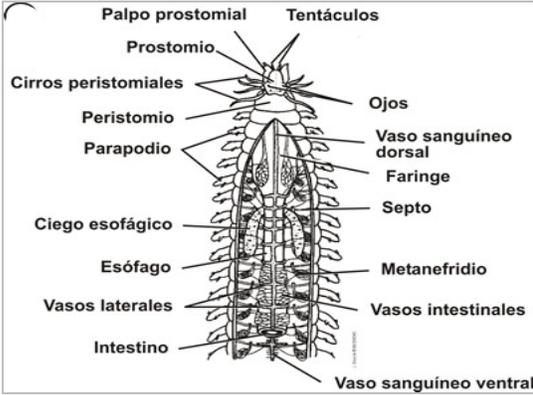
Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

	<p>encontrarlo se fija y metamorfosea y adquiere el aspecto externo de un adulto.</p> <p>Dado que los mitílidos son organismos sésiles, es decir, no son capaces de desplazarse de un lugar a otro en busca de alimento; deben filtrar su</p> <p>alimento, es decir, capturan su alimento a través de sus branquias y luego lo transportan a la boca para iniciar la digestión. El alimento que consumen se encuentra flotando en el agua y es muy pequeño (menor a 0,01 mm), puede ser microalgas y material particulado.</p>
--	--

Tabla 13. Ficha descriptiva de la especie *Nephtys impressa* (Género Nephthys; Cuvier, 1817)

Especie	Descripción
<p data-bbox="332 680 738 764">Género Nephthys (Cuvier, 1817) <i>Nephtys Impressa</i></p>  <p data-bbox="483 1209 792 1230">ww.macrofauna.cl - Copyright IFOP, 2011</p>  <p data-bbox="267 1308 800 1703"> Palpo prostomial Tentáculos Prostomio Cirros peristomiales Ojos Peristomio Vaso sanguíneo dorsal Parapodio Faringe Ciego esofágico Septo Esófago Metanefridio Vasos laterales Vasos intestinales Intestino Vaso sanguíneo ventral </p>	<p data-bbox="834 833 1338 1770">Prostomio ligeramente pentagonal, un poco más largo ancho, borde anterior levemente convexo. Sin ojos, ni manchas oculares visibles. El prostomio no es pigmentado, Sólo presenta una pequeña mancha más o menos central color herrumbre. Dos pares de antenas algo aplanadas. Dos pares de antenas algo aplanadas, triangulares. La probóscide evaginada es bastante conspicua, posee 22 a 24 filas longitudinales de papilas cónicas con 6 7 papilas en cada fila. Los parapodos están muy bien desarrollados a lo largo de todo el animal. Los cirros branquiales interramales son curvados hacia afuera y densamente ciliados en su</p>



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

contorno. El primero aparece a partir del 4º segmento setífero y están presentes hasta el final del cuerpo. La lámela notopodial dorsal es oval en los segmentos anteriores y alargada en los segmentos medios y posteriores. El cirro notopodial, ubicado en la base de la branquia, es digitiforme en todos los parápodos. La lámela neuropodial post-setal es de base ancha, alargada y aplanada, en los segmentos anteriores. En los segmentos posteriores es redondeada y en parte es sobrepasada en longitud por la lámela presetal. En el ángulo superior del neurópodo se destaca nítidamente la formación de un lóbulo accesorio, que es aplanado en ciertos parápodos y en otros digitiforme. Las cerdas preaciculares, notopodiales y neuropodiales, son barreadas, cortas y con extremo distal curvado. Las postaciculares son espiniformes, largas y terminan en punta fina. Pigidio cónico con un largo filamento medio ventral (Rozbaczyló y Castilla, 1974).

9. LISTA DE CHEQUEO

Se propone la siguiente lista de chequeo, para la evaluación de la data proveniente de los análisis químicos de muestras de agua, sedimentos y biológicos, con el objeto de poder realizar una evaluación de la información recibida.

REQUISITO	DEBIERA INDICAR	PARA	COMPROBACIÓN
En cuanto al análisis			
Unidades	De acuerdo al protocolo de análisis indicado para cada analito y matriz	Todos los analitos	✓
Límite de detección	< LD – de acuerdo a metodología propuesta	Todos los métodos utilizados	✓
Límite de cuantificación	< LD – de acuerdo a metodología propuesta	Todos los métodos utilizados	✓
Metodología Utilizada	Código de metodología utilizada	Todos los métodos deben estar referenciados con una metodología analítica	✓
Matriz	Agua Sedimentos Biológicos	Indicar la matriz analizada	✓
Certificación	Indicar certificación	En lo posible	✓



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

del método analítico	existente del método utilizado	todos los métodos de análisis	
Exactitud del método	Valores de exactitud de los métodos utilizados	Para toda las metodologías utilizadas	✓
En cuanto al muestreo			
Código de la muestra	Identificación de la muestra	Para todas las muestras en todas las matrices	✓
N° profundidades muestreadas	Profundidades muestreadas indicadas en protocolos de muestreo	Todas las estaciones en profundidad y estuarios estratificados	✓
Copia de la cadena de custodia	La recepción de los datos debe incorporar los registros del muestreo	Información requerida para todas las muestras colectadas (agua, sedimento, biológico)	✓
Fecha y hora	Se debe indicar antecedentes de fecha y hora del muestreo	Para todas las muestras colectadas	✓



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

Coordenadas geográficas	Indicar el punto exacto de muestreo, mediante coordenadas	Todas las estaciones muestreadas	✓
Técnica de muestreo	Indicar la técnica de acuerdo a la matriz a muestrear y al protocolo indicado en el presente informe	Para cada una de las matrices muestreadas	✓
Cuerpo de agua	Cuerpos agua marina - estuarina	Para cada muestra colectada, permite verificar la adecuación de los análisis de acuerdo a la matriz	✓



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO

PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

10. FICHA ESTANDARIZADA

Se presentan a continuación las fichas propuestas para la presentación y chequeo de la información proporcionada por los programas de monitoreo y análisis de matrices ambientales (agua, sedimento y biológicas).

Éstas incorporarán los valores medidos, las metodologías de medición, los límites de detección y cuantificación de las metodologías utilizadas.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°1

PROTOCOLOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES
RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERT A. L. 1990. Curso básico de Toxicología Ambiental. Editorial Limusa, S. A. de C. V. México. 145-169 pp.
- ALDEA, C. y Valdovinos, C. 2005. Moluscos del Intermareal Rocoso del Centro – Sur de Chile (36° - 38°S): Taxonomía y Claves de Identificación. *Gayana*, 69 (2): 364 – 396.
- ALLEN, H. y Hansen, D. 1996. The importance of trace metal speciation to water quality criteria. *Water environment research*. 68 (1): 215-231.
- ALLSOPP, M. y Erry, B. 2000. Pops in Latin America. A review of persistent organic pollutant levels in Latin America. Greenpeace Research Laboratories, Department of Biological Sciences, University of Exeter. www.greenpeace.org.
- ALMEIDA, E., Bainy, A., Medeiros, M. y Di Mascio, P. 2003. Effects of trace metal and exposure to air on serotonin and dopamine levels in tissues of the mussel *Perna perna*. *Marine Pollution Bulletin*. 46:1485–1490.
- AL-SAAD, H. T. 1996. Distribution and sources of aliphatic hydrocarbons in fish from the Arabian Gulf. *Mar. Pollut. Bull.* 21, 155-157.
- ANZECC & ARMCANZ. 2000. Australian and New Zealand Guidelines for Fresh and Marine Water Quality - Volume 2 - Chapter 8 - Aquatic Ecosystems - 8.2 Physical and Chemical Stressors. 74 pp.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°1

PROTOCOLOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES
RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- APHA.1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Edición 20. APHA/AWWA/WPCF. 1134 pp
- ASTM, 1994. American Society for Testing and Materials. Method D3590. Philadelphia.
- BECKVAR, N., Field, J., Salazar, S.y Hoff, R. 1996. Contaminants in Aquatic Habitats at Hazardous Waste Sites: Mercury. NOAA Technical Memorandum NOS ORCA 100. Seattle: Hazardous Materials Response and Assessment Division, National Oceanic and Atmospheric Administration. 74 pp.
- BELLAN, G. 1980. Relationship of pollution to rocky bottom substratum polychaetes on the French Mediterranean coast. Marine Pollution Bulletin 11: 318-321.
- BELLAN, G, Desrosiers, G. y Willsie, A. 1988. Use of an Annelid Pollution Index for monitoring a moderately polluted littoral zone. Marine Pollution Bulletin 19: 662- 665.
- BERGHOF, Maassen. 1995. Operating Instructions Pressure Digestion Systems DAB II+III. Germany.
- BONILLA, J. 1999. Calidad del agua de la Ensenada Grande de Obispo. Estado Sucre. Venezuela. Acta Cient. Ven., 2 (50):1-86.
- BRAVO, F. 2007. Estudios procesos metabólicos y variables sedimentológicas como PROXY para la evaluación del estado de trofia del bentos. Caso de estudio: Sedimentos del fiordo y seno de Reloncaví, X Región Chile. Tesis. Universidad Austral de Chile. 107 pp.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°1

PROTOCOLOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES
RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- BORCHARDT, T., Burchert, S., Hablitzel, H., Karbe, L. y Zeitner, R. 1988. Trace metal concentration in mussels: Comparison between estuarine, coastal and offshore regions in the southeastern North Sea from 1983 to 1986. *Marine Ecology*, 42 (1):17 – 31.
- BROWN, M.S. 1984. Mangrove litter production and dynamics. En *the mangrove ecosystems: research methods*; editado por S.C. snedaker y J. E. Snedaker. UNESCO, Paris. 231 – 251 pp.
- BUSTOS, C. 2007. Desarrollo de una metodología para la estimación del caudal de dilución en estuarios, “aplicación estuario pudeto, x región. trabajo de titulación presentado en conformidad a los requisitos para obtener el título de ingeniero civil en geografía. Universidad de Santiago de Chile facultad de ingeniería departamento ingeniería geográfica.
- CAÑETE, JI. 1999. Papel de los poliquetos (Annelida) en estudios de impacto ambiental en el mar. *Revista Austro Universitaria*, Punta Arenas, Chile, N° 11: 36-38.
- CARIPOL. 1980. Manual para la vigilancia de la contaminación por petróleo. IOCARIBE/ CARIPOL, pp 12-22.
- CASADO–MARTÍNEZ, M. 2006. Interlaboratory assessment of marine bioassays to evaluate the environmental quality of coastal sediments in Spain. I. Exercise description and sediment quality *Ciencias Del Mar*.32:139-147.
- CLARK, M.J.R. 2003. *British Columbia Field Sampling Manual*. Water, Air and Climate Change Branch, Ministry of Water, Land and Air Protection, Victoria, BC, Canada. 312 pp.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°1

PROTOCOLOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES
RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- CONTI, E. y Cecchetti, G. 2003. A biomonitoring study: trace metals in algae and molluscs from Tyrrhenian coastal areas. *Environmental Research* 93:99-112.
- CHRISTIE, W. W. 1987. *Lipid Analysis*. Pergamon Press, 2a. Ed. Londres.
- CROSBY, T., y Patel, I. 1995. *General Principles of Good Sampling Practice*. The Royal Society of Chemistry. Cambridge.
- CUNNINGHAM, P.A. y Tripp, M.R., 1975a. Factors affecting the accumulation and removal of mercury from tissues of the American oyster *Crassostrea virginica*. *Mar. Biol.* 31, 311–319.
- CHU FU-LIN, T., Volety A., Constantin G. y Hale, R.C. 1997. Lipid class composition of oysters, *Crassostrea virginica*, exposed to sediment-associated PAHs. *J. Shellfish Res.* 16, 1, 349-350.
- DAUER, DM y Connor, WG. 1980. Effects of moderate sewage input on benthic polychaete populations. *Estuarine and Marine Science* 10: 335-346.
- DELBERT, B. y Starks, T. 1985. *Sediment Sampling Quality Assurance User's Guide*. EPA 600/4-85-048.
- DILLON, T.M. y Neff, J.M., 1978. Mercury and the estuarine marsh clam *Rangia cuneata* Gray. II. Uptake, tissue distribution and depuration. *Mar. Environ. Res.* 1, 67–77.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°1

PROTOCOLOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES
RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- DIMITRIADIS, V.K., Domouhtsidou, G.P. y Raftopoulou, E., 2003. Localization of Hg and Pb in the palps, digestive gland and the gills in *Mytilus galloprovincialis* (L.) using autometallography and X-ray microanalysis. *Environ. Pollut.* 125, 345–353.
- DE WOLF, P. 1975. Mercury content of mussels from West European coasts. *Mar. Pollut. Bull.* 6, 61–63.
- EISLER, R. 2010. Compendium of trace metals and Marine Biota. Volume 1: Plants and invertebrates. Elsevier. 639 pp.
- ELEFThERIOUS, A. y Mc Intyre, A. 2010. Methods for Determination of Chemical Substances in Marine and Estuarine Environmental samples. Third Edition. Blackwell Science. 442 pp.
- ESCOBAR, J. 2002. La contaminación de los ríos y sus efectos en las áreas costeras y el mar. Serie 50, Recursos naturales e Infraestructura. División de Recursos naturales e Infraestructura. CEPAL.
- FAO. 1975. Manual of Methods in Aquatic Environment Research. Parte 1. FAO fish. Teach. Paper No. 137. Office of Water, Washington, DC.EPA.
- FAO. 1984. Métodos Físicos y Químicos de Análisis de Suelos y Aguas. Boletín de suelos de la FAO.
- FELL, W., Master. I., y Wiegert, R. 1984. Litter decomposition and nutrient enrichment. En the mangrove ecosystem: Research and methods. Editado por S.C. Snedaker y J.G. Snedaker. UNESCO. Paris.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°1

PROTOCOLOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES
RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- FISHER, J., Ferdelman, T., Hondt, S., Roy, H. y Wenzhöfer, F. 2009. Oxigen penetration deep into the sediment of the south Pacific gyre. *Biogeosciences Discuss.* 6, 3159 – 3186.
- FOWLER, S.W. y Oregioni, B., 1976. Trace metals in mussels from the N.W. Mediterranean. *Mar. Pollut. Bull.* 7, 26–29.
- FOWLER, S.W., Heyraud, M. y La Rosa, J., 1978. Factors affecting methyl and inorganic mercury dynamics in mussels and shrimp. *Mar. Biol.* 46, 267–276.
- FRANCO, A. 2001. Estrategias de ingestión de *Eucalanus* spp en dos ambientes oceanográficos del Caribe central colombiano. Informe final Proyecto Facultad de Biología Marina – Centro de Investigaciones Científicas. Universidad Jorge Tadeo Lozano. Santa Marta. 79 pp.
- GALTSOFF, P. S. 1964. The American oyster *Crassostrea virginica* Gmelin. US Department of the Interior Fishery Bulletin 64:1-480.
- GARAY, J., Panizzo, L., Ramírez, G., y Sánchez, J. 1993. Manual de técnicas analíticas de parámetros físicoquímicos y contaminantes marinos. Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas, CIOH. Cartagena.
- GIBSON, R., Bowman, M., Gerritsen, J. y Snyder, B. 2000. Estuarine and Coastal Marine Waters: Bioassessment and Biocriteria Technical Guidance. EPA 822-B-00-024. U.S.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°1

PROTOCOLOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES
RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- GLUND, R. 2008. Oxygen Dynamics of Marine Sediments. *Marine Biology Research*. 4: 4, 243 – 289.
- GRAHAM, D.L., 1972. Trace metal levels in intertidal mollusks of California. *Veliger* 14, 365–372.
- GRASSHOFF, K., Ehrhardt, K. y Kremling, K. 1976. *Methods of Seawater Analysis*. Verlag Chemie, Weinheim. New York. 149 pp.
- GRAY, J. y Elliot, M. 2009. *Ecology of Marine Sediments, From Science to Management*. Second Edition. Oxford University Press. 241 pp.
- GUNDACKER, C. 1994. Tissue-specific heavy metal (Cd, Pb, Cu, Zn) deposition in a natural population of the Zebra mussel *Dreissena polymorpha* Pallas. *Chemosphere*. 38:3339-3356.
- GUTIÉRREZ M., Establier, R. y Arias, A. 1978. Acumulación y efectos histopatológicos del cadmio y el mercurio en el sapo (*Halobatrachus didactylus*). *Inv. Pesq.* 42(1): 141-154.
- GY, P.M. 1998. *Sampling for Analytical Purposes*. John Wiley. England. 150.
- HIGHT, S. 1987. Rapid determination of methylmercury in fish and shellfish: collaborative study. *Journal Association Official Analytical Chemistry*, 70 (4): 667-672.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°1

PROTOCOLOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES
RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- HIGHT, S. y Corcoran, M. 1987. Rapid determination of methylmercury in fish and shellfish. Method development. *Journal Association Official Analytical Chemistry*, 70 (1): 24 - 30.
- Horiguchi, T., Li, Z., Uno, S., Shimizu, M., Shiriashi, H., Morita, M., Thompson, J. y Levings, C. 2004. Contamination of organotin compounds and imposex in molluscs from Vancouver, Canada. *Marine Environmental Research* 57:75–88.
- ICA. 1991. Manejo de muestras y técnicas de análisis para la determinación de residuos de plaguicidas. Supervisión y control de calidad de pesticidas. Ministerio de Agricultura/ICA Tibaitata.
- ICONTEC. 1995. Norma Técnica Colombiana NTC-ISO 5667-2. Gestión ambiental. calidad del agua. Muestreo. Técnicas generales de muestreo. Bogotá.
- IFOP. 2009. Manual de Procedimientos para toma de muestras de Macrofauna. Desarrollo de colecciones biológicas de macrobentos para incrementar certidumbre en la identificación taxonómica en apoyo a los requerimientos del RAMA. 16 pp.
- INVEMAR. 2003. Manual de Técnicas Analíticas para la Determinación de Parámetros Físico-químicos y Contaminantes Marinos (agua, sedimentos y organismos). 148 pp.
- INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS). 1989. Environmental Health. Criteria 86. Mercury. Environmental Aspects. World Health Organization (WHO), United Nations (UN).



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°1

PROTOCOLOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES
RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- JE, J.G., Belan, T., Levings, C. y Koo, B.K. 2004. Changes in benthic communities along a presumed pollution gradient in Vancouver Harbour. *Marine Environmental Research* 57:121–135.
- KAYRALLAH, NH. 1985. The tolerance of *Bathyporeia pilosa* Lindstrom (Amphipoda: Haustoriidae) to organic and inorganic salts of mercury. *Marine Environmental Research*, 15: 137-151.
- KIELY, G. 1999. *Ingeniería Ambiental. Fundamentos, entornos, tecnologías y sistemas de gestión*. Mc. Graw Hill. España.
- KLERKS, P. y Weis, J. 1987. Genetic adaptation to heavy metals in aquatic organisms: a review. *Environmental Pollution* 45:173-205.
- LEWIS, A. G. 1990. The biological importance of copper. A literature review. Final report INCA project No. 223. [http://scirus.landingzone.nl/other/?q= Type%20y our%20own%20search%20here](http://scirus.landingzone.nl/other/?q=Type%20y%20our%20own%20search%20here).
- LINCON-SMITH, M. P. y Cooper, T.F. 2002. Combining the use of gradients and reference areas to study bioaccumulation in wild oysters in the Hunter River estuary, New South Wales, Australia. *Marine Pollution Bulletin* 48:873–883.
- LYNCH, J.M. y Poole, N. 1979. *Microbial ecology: a conceptual approach*. Blackwell Scientific Publications.
- LOOSANOFF, V. L. y Tommers, F.D. 1948. Effect of suspended silt and other substances on rate of feeding of oysters. *Science* 107:69-70.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°1

PROTOCOLOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES
RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- LOOSANOFF, V. L. 1962. Effects of turbidity on some larval and adult bivalves. Proceedings of the Gulf and Caribbean Fisheries Institute 14:80-95.
- MAANAN, M. 2007. Biomonitoring of heavy metals using *Mytilus galloprovincialis* in Safi coastal waters, Morocco. Environ. Toxicol. 22, 525–531.
- MANAHAN, S. E. Environmental Chemistry. Séptima Edición, Lewis Publisher, 2000. 876 pp.
- MARGALEF, R. 1982. Ecología. Omega. Barcelona. 951 pp.
- MINGANTI, V, Capellí, R. y Pellegrini, R de. 1990. The presence of inorganic and organic mercury and selenium in *Nephrops norvegicus* from the Ligurian Sea. The Science of Total Environment, 95: 53 – 60.
- MILLER, R., Bradford, W. y Peters, N. 1998. Specific conductance; theoretical considerations and application to analytical quality control. Water Supply Paper.2311. USGS Numbered Series.
- MINISTRY OF WATER, LAND AND AIR PROTECTION. 2002. Protocols for Marine Environmental Monitoring. British Columbia. Environmental Protection Division. 29 pp.
- MORRIS, A. y Riley, J. The determination of nitrate in sea water. Anal. Chim. Act 29: 272 - 279.
- MULLIN, J. y Riley, J. 1955. The colorimetric determination of silicate with special reference to sea and natural Water. Anal. Chim. Acta 12:162-176.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°1

PROTOCOLOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES
RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- MURPHY, J. y Riley, J. 1952. A modified single solution method for the examination on Phosphate in natural Water. *Anal. Chim. Acta*.
- NELSON, D.A., Calabrese, A. y MacInnes, J.R., 1977. Mercury stress on juvenile bay scallops, *Argopecten irradians*, under various salinity-temperature regimes. *Mar. Biol.* 43, 293–297.
- OHREL, R. y Register, K. 2006. *Volunteer Estuary Monitoring, A Methods Manual. Second Edition.* 396 pp.
- OLSON, K.R. y Harrel, R.C., 1973. Effect of salinity on acute toxicity of mercury, copper, and chromium for *Rangia cuneata* (Pelycopoda, Mactridae). *Contrib. Mar. Sci.* 17, 9–13.
- PAPAGEORGIOU, N., Arvanitidis, C. y Eleftheriou, A. 2006. Multicausal environmental severity: a flexible framework for microtidal sandy beaches and the role of polychaetes as an indicator taxon. *Estuar. Coast.Shelf Sci.* 70: 643-653.
- PARSONS, T., Maita, Y. y Lalli, C. 1984. *A Manual of Chemical and Biological Methods for Seawater Analysis.* Pergamon Press. 173 pp.
- PHILLIPS, DJ. 1990. Use of macroalgae and invertebrates as monitors of metals level in estuaries and coastal waters. In R. Furness & P.S. Rainbow (Eds). *Heavy metals in the marine environment.* C.R.S Press Inc.
- POCKLINGTON, P. y Wells, PG. 1992. Polychaetes. Key Taxa for Marine Environmental Quality Monitoring. *Marine Pollution Bulletin.* 24 (12): 593-598.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°1

PROTOCOLOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES
RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- PRINGLE, B. y Shuster, C. 1977. A Guide to trace metal level in Shelfish. 6th National Shellfish Sanitation Workshop. February 7-9: 967- 987.
- RAMAN, A.V y Ganapati, P.N. 1983. Pollution effects on ecobiology of benthic polychaetes in Visakhapatnam Harbour (Bay of Bengal). Marine Pollution Bulletin 14 (2): 46-52.
- REISH, DJ. 1998. The use of larvae and small species of polychaetes in marine toxicological testing. En: Wells PG, K Lee & C Blaise (Eds), Microscale testing in aquatic toxicology. Advances, techniques and practice 26: 383- 393. CRC Press, Boca Ratón.
- RILEY, J.P. 1953. The Spectrophotometric determination of amonia in natural water with particular reference to sea-Water Anal. Chim Acta Vol 9: 575-589.
- RILEY, J.P. 1975. Analytical chemistry of sea water. En: Riley, J.P y Skirrow, G. (Eds.) Chemical Oceanography. 193 – 477 pp.
- RIISGARD, HU, Kiorbe, T., Mohlenberg, F., Draback, I. y Pheiffer Madsen, P. 1985. Accumulation, elimination and chemical speciation of mercury in the bivalves *Mytilus edulis* and *Macoma balthica*. Marine Biology, 86: 55-62.
- ROZBACZYLO, N. y Castilla, J.C. 1974. La familia Nephtyidae en Chile (Annelida, Polychaeta). Stud. Neotrop. Fauna, 9(2): 179-206.
- RODIER, J.1981. Análisis de las aguas. Aguas naturales, aguas residuales y agua de mar. Ediciones Omega. Barcelona-España.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°1

PROTOCOLOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES
RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- RUIZ, J., Cedeño, C., Espinosa, A. y Gómez, J. 1991. Estudio de la contaminación del río Magdalena por metales traza, su relación con parámetros hidrológicos fisicoquímicos y su incidencia en la salud humana. Himat-Ingeominas. 59 pp.
- RUIZ MATEO, A., Buceta, J. L, Sierra, J. L. y Lloret, A. M.1994. Calidad del Medio Litoral. En: Seminario Hispano – Cubano sobre Gestión y Actuaciones en la Costa. La Habana, 18 al 22 de julio de 1994. Centro de Estudios de Puertos y Costas (CEPYC). Centro de Estudios y experimentación de Obras Publicas (CEDEX). Ministerio de Obras Públicas. Transportes y Medio Ambiente. España.
- SALAMANCA, M. 1996. Laboratorio de Química Marina. Curso de Química Marina y Guía de Trabajos Prácticos. Departamento de Oceanografía. Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas. Universidad de Concepción. Concepción. 68 pp.
- STRICKLAND, J. y Parsons, T. 1972. A practical handbook of seawater analysis. Fish. Res. Board of Canada. Segunda Edición. Otawa.
- SWARTZ, R.C. 1978. Techniques for sampling and analyzing the marine macrobenthos. EPA-600/3-78-030. U.S. Environmental Protection Agency, Corvallis, OR. 27 pp.
- THE ROYAL SOCIETY. 1979. The Effects of Marine Pollution: Some Research Needs. A Memorandum: 5-78.
- UN/ECE. 2002. Guidance to Operation of Water Quality Laboratories. Technical Report. 94 pp.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°1

PROTOCOLOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES
RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- UNEP.1984. Sampling of Selected marine organisms and sample preparation for trace metal analysis. Reference Methods for Marine Pollution Studies N°7 Rev. 2. 23 pp.
- UNEP.1992. Guidelines for Monitoring Chemical Contaminants in the Sea Using Marine Organisms. Reference Methods for Marine Pollution Studies N°6. 26 pp.
- UNESCO. 1983. Chemical Methods for use in Marine Environmental Monitoring. IOC Manuals and Guides. 12. 56 pp.
- UNESCO. 1996. Oceanographics Survey Techniques and Living resources Assessment Methods. IOC Manuals and Guides. 32. 356 pp.
- UNESCO. 1996. Water Quality Assessment. A guide to use of Biota, Sediments and Water in Environmental Monitoring. 609 pp.
- UNDERWOOD, A. 1996. Environmental Design and Analysis in Marine Environmental Sampling. IOC, Manual and Guides N°34. UNESCO. 93 pp.
- US. EPA. 1980. Manual of Analytical Methods for the Analysis of Pesticides in Human and Environmental Samples. Environmental Protection Agency, EPA-600/8-80-038, Health Effects Research Lab. Research Triangle Park, NC.
- U.S EPA. 1982. Handbook for Sampling and Sample Preservation of Water and Wastewater. EPA 600-4-82-029. U.S Environmental Protection Agency, Environmental Monitoring and support Laboratory, Cincinnati OH 45268. 418 pp.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°1

PROTOCOLOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES
RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- U.S EPA. 1983. Methods for chemical Analysis of Water and wastes. EPA 600-4-79-020. U.S Environmental Protection Agency, Office of Research and Development Washington, DC 20460. 491 pp.
- U.S EPA. 1985. Sediment Sampling Quality Assurance User's Guide. EPA 600-4-85-048. U.S Environmental Protection Agency, Environmental Monitoring System Laboratory, Las Vegas. 140 pp.
- U.S EPA. 1985. Bioaccumulation Monitoring Guidance: 3.Recommended analytical detection limits. U.S Environmental Protection Agency, Office of Water. Washington, D.C 20460. 30 pp.
- U.S EPA. 1986. Bioaccumulation Monitoring Guidance: 4. Analytical Methods for U.S EPA Priority Pollutants and 301 (h) Pesticide in Tissue from Estuarine and Marine Organisms. EPA 503-6-90-002. U.S Environmental Protection Agency, Office of Water. Washington, D.C 20460. 125 pp.
- U.S EPA. 1989. Compendium of Methods for Marine and Estuarine Environmental Studies. EPA 503-2-89-001. U.S Environmental Protection Agency, Office of Water (WH-556F). 234 pp.
- U.S EPA. 1990. Contaminated Sediments. Relevant Statutes and EPA Program Activities. EPA 506-6-90-003. U.S Environmental Protection Agency, Sediment Oversight Technical Committee (WH – 553).158 pp.
- U.S EPA. 1992. Monitoring guidance for the National Estuary Program. EPA 842- B-92-004. U.S Environmental Protection Agency, Office of Water (WH-556F). 384 pp.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°1

PROTOCOLOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES
RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- U.S EPA. 1992. Methods for Determination of Chemical Substances in Marine and Estuarine Environmental Samples. EPA 600/R-92-121. U.S Environmental Protection Agency, Office Research and Development, Washington, DC. 98 pp.
- U.S EPA. 1994. CWA Section 403: Procedural and Monitoring Guidance. EPA 842-B-94-003. U.S Environmental Protection Agency, Office of Water. (4504F). 352 pp.
- U.S EPA. 1995. Bibliography of Methods for Marine and Estuarine Monitoring. EPA 842-B-95-002. U.S Environmental Protection Agency, Office of Water (4504F). 407 pp.
- U.S EPA. 1997. Recommended Guidelines for Measuring Organic Compounds in Puget Sound Water, Sediment and Tissue samples. U.S Environmental Protection Agency. Puget Sound Quality Action Team. 55 pp.
- U.S EPA. 2001. Methods for Collection, Storage and Manipulation of Sediments for Chemical and Toxicological Analyses: Technical Manual. EPA 823-B-01-002. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington, DC.
- U.S EPA. 2002. Guidance on Choosing a Sampling Design for Environmental Data Collection, for use in Developing a Quality Assurance Project Plan. EPA 240-R-02-005. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Environmental Information. Washington, DC.
- U.S EPA. 2006. Volunteer Estuary Monitoring. A Methods Manual. Second Edition. U.S Environmental Protection Agency, Washington, DC. 396 pp.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°1

PROTOCOLOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES
RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

- U.S EPA. 2010. National Coastal Condition Assessment. Laboratory Methods Manual. EPA 841-R-09-002. Environmental Protection Agency, Washington, DC. 241 pp.
- U.S EPA. 2010. National Coastal Condition Assessment. Field Operations Manual. EPA 841-R-09-003. U.S Environmental Protection Agency, Washington, DC. 133 pp.
- U.S EPA. 2010. Health Effects Research Lab. Research Triangle Park, NC. EPA-600/8-80-038. U.S Environmental Protection Agency.
- USGS. 1993. Methods for Collecting Benthic Invertebrate Samples as part of the National Water-Quality Assessment Program. Open file report 93-406. 77 pp.
- USGS. 2003. National Field Manual for the Collection of Water – Quality data. 60 pp.
- USGS. 2005. National Field Manual for the Collection of Water – Quality data. Chapter A8. Bottom Material Samples. 60 pp.
- VAN EPS, G, E. 1982. Increase in surf clam populations after hypoxic water conditions off Little Egg inlet, New Jersey. *Journal of Shellfish Research* 2:59 - 64.
- WRENCH, J.J. 1978. Biochemical correlates of dissolved mercury uptake by the oyster *Ostrea edulis*. *Mar. Biol.* 47, 79–86.
- WTW-ORION. Manual de instrucciones. Salinometer WTW-640.
- WU, R. 2002. (ABSTRACT). Hypoxia: from molecular responses to ecosystem responses. *Marine Pollution Bulletin.* 45, 1-12:35-45.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°1
PROTOCOLOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES
RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°1
PROTOCOLOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES
RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

12. ANEXOS (los anexos se entregan en copia digital)



ANEXO 1. TEMPERATURA – 2550 B (Standard Methods Field Measurements)

ANEXO 2. SALINIDAD – 2520 B

ANEXO 3. SOLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES – 2540 D

ANEXO 4: METALES - AGUA 3020 A / 3112 B

ANEXO 5: XILENO – AGUA 6200 B

ANEXO 6: PENTACLOROFENOL – AGUA 6420 B

ANEXO 7: DDT – AGUA – SEDIMENTO - ORGANISMOS

ANEXO 8: POTENCIAL REDOX – SEDIMENTO - Resolución 404/2003 (Ministerio de Economía Fomento y Reconstrucción - Subsecretaría de Pesca)

ANEXO 9: OXÍGENO DISUELTO – SEDIMENTO – 4500 – O B

ANEXO 10: MATERIA ORGÁNICA – SEDIMENTO – BS 1377 - 1990

**ANEXO 11: NUTRIENTES – SEDIMENTO (NITRÓGENO – FÓSFORO) – 4500 C
NITROGEN (ORGANIC) – FAO, 1975**

ANEXO 12: METALES – SEDIMENTOS – 3050 B

**ANEXO 13: XILENO – SEDIMENTOS – 5021 (VOLATILE ORGANIC
COMPOUNDS IN SOILS AND OTHER SOLID MATRICES USING EQUILIBRIUM
HEADSPACE ANALYSIS) / 8021 B**

**ANEXO 14: PENTACLOROFENOL – SEDIMENTOS – 8041 A (PHENOLS BY GAS
CHROMATOGRAPHY)**



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°1

PROTOCOLOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES
RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO

ANEXO 15: XILENO – ORGANISMOS MARINOS – 8021 B (AROMATIC AND HALOGENATED VOLATILES BY GAS CHROMATOGRAPHY USING PHOTOIONIZATION AND/OR ELECTROLYTIC CONDUCTIVITY DETECTORS) Ó 8260B (VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS BY GAS CHROMATOGRAPHY/ MASS SPECTROMETRY (GC/MS))

ANEXO 16: PENTAFLOROFENOL – ORGANISMOS MARINOS – U.S EPA, 1986 (GAS CHROMATOGRAPHY OF EXTRACTABLES COMPOUNDS) (1625 EPA)



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.
ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

ANEXO 2. Informe Técnico N°2, “Evaluación de Protocolos Armonizados de Muestreo y Análisis de contaminantes Relevantes en el Medio Marino. Caso de estudio: Fiordo Aisén.



INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

INFORME TÉCNICO N°2

“EVALUACION DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO”. CASO DE ESTUDIO: FIORDO AISÉN

Elaborado por el Centro Nacional del Medio Ambiente
(CENMA) para el Ministerio del Medio Ambiente (MMA)

Santiago de Chile
Diciembre 2011



CONTENIDO

CONTENIDO	2
ÍNDICE DE FIGURAS.....	4
ÍNDICE DE TABLAS	6
ÍNDICE DE ANEXOS.....	7
1. RESUMEN.....	8
2. INTRODUCCIÓN.....	10
3. OBJETIVOS.....	12
4. CASO DE ESTUDIO.....	13
4.1 ECOSISTEMAS DE FIORDOS	13
4.2 ANTECEDENTES DE LA ZONA DE ESTUDIO	15
a. Características Generales Fiordo de Aysén.....	15
b. Asentamientos humanos	19
c. Uso del Suelo	20
d. Usos del Borde Costero	23
e. Descargas	27
5. METODOLOGÍA	30
5.1 MUESTREO DE SEDIMENTOS MARINOS.....	30
a. Estaciones de Muestreo	30
b. Muestreo de sedimentos marinos	34
5.2 ANÁLISIS DE SEDIMENTOS.....	42



INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

a.	Materia orgánica.....	42
b.	Metales.....	43
6.	RESULTADOS.....	47
a.	Materia Orgánica.....	47
b.	Contenido de Metales.....	51
a.	Organismos marinos.....	68
7.	CONCLUSIONES Y DISCUSIÓN.....	69
8.	BIBLIOGRAFÍA.....	74
9.	ANEXO.....	78



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Representación esquemática del flujo de corrientes en ecosistemas de fiordos.	14
Figura 2. Batimetría Fiordo	17
Figura 3. Batimetría Bahía	18
Figura 4. Mapa de uso de suelo	22
Figura 5. Zonificación del borde.....	25
Figura 6. Concesiones acuícolas.....	26
Figura 7. Descargas en la Cuenca	29
Figura 8. Área de estudio, Fiordo	33
Figura 9. Zona de muestreo en desembocaduras de ríos.	36
Figura 10. A. Muestreo por medio de buceo; B y D. Muestras de sedimentos marinos; C. Corer con muestra de sedimento.....	39
Figura 11. Organismos recolectados en muestras de sedimentos. A. corer con sedimentos; B y E. Poliquetos; C, D y E. Moluscos bivalvos.	40
Figura 12. Organismos recolectados en muestras durante el muestreo de sedimentos. A. Estrella de mar; B Jaiba; C. Sedimento en base a restos de conchas; D. Poliqueto	41
Figura 13. Contenido de materia orgánica (%) en sedimentos del Fiordo de Aysén.....	50
Figura 14. Contenido de metales en sedimentos del Fiordo Aysén. A. Zinc, B. Cadmio.....	55
Figura 15. Contenido de metales en sedimentos del Fiordo Aysén. C. Cromo, D. Cobre.....	56
Figura 16. Contenido de metales en sedimentos del Fiordo Aysén. E. Níquel, F. Pomo.	57
Figura 17. Contenido de metales en sedimentos del Fiordo Aysén. G. Aluminio, H. Mercurio. .	58
Figura 18. Contenido de metales en sedimentos marinos del Fiordo Aysén. I. Manganeso, J. .	59
Figura 19. Contenido de metales en sedimentos marinos del Fiordo Aysén. K. Bario, L. Cobalto	60
Figura 20. Contenido de metales en sedimentos del Fiordo Aysén. M. Molibdeno, N. Boro.....	61
Figura 21. Contenido de metales en sedimentos del Fiordo Aysén. O. Hierro.....	62



INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

Figura 22. Contenido de	66
Figura 23. Contenido de	67



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características de ecosistemas del tipo Fiordos	14
Tabla 2. Población total Cuenca del Río Aysén.....	19
Tabla 3. Clasificación del uso del suelo en la cuenca el Río Aysén.	20
Tabla 4. Descargas de aguas servidas en la cuenca del Río Aysén.....	28
Tabla 5. Descargas Industriales en la Cuenca del Río Aysén.....	28
Tabla 6. Estaciones de muestreo Fiordo de Aysén.	32
Tabla 7. Estaciones de muestreo y código de muestra	37
Tabla 8. Profundidades de muestreo y características del sedimento	38
Tabla 9. Resultados análisis de materia orgánica en sedimentos.....	49
Tabla 10. Contenido de metales en sedimentos marinos del Fiordo de Aysén.....	53
Tabla 11. Análisis de metales por medio de dos métodos (Espectrometría de fluorescencia de rayos X (FRX) y Espectrofotometría de emisión atómica con acoplamiento inductivo (EEA – ICP).....	63
Tabla 12. Criterio para concentración de metales en sedimentos (ug/g) establecidos por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (USEPA).	71
Tabla 13. Valores de concentración de metales traza en sedimentos y rocas de diferentes localidades (ug/g).....	72
Tabla 14. Concentración de metales (ug/g), en sedimentos del Seno de Aysén.	72
Tabla 15. Contenido de materia orgánica, Fiordo Aysén (Cimar Fiordos 1, 1995).....	73



ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1.	Concentración de Cadmio (ug/g), en sedimentos marinos del Fiordo Aysén	79
ANEXO 2.	Concentración de Zinc (ug/g), en sedimentos marinos del Fiordo Aysén.....	81
ANEXO 3.	Concentración de Cromo (ug/g), en sedimentos marinos del Fiordo Aysén.....	83
ANEXO 4.	Concentración de Cobre (ug/g), en sedimentos marinos del Fiordo Aysén.....	85
ANEXO 5.	Concentración de Níquel (ug/g), en sedimentos marinos del Fiordo Aysén	87
ANEXO 6.	Concentración de Plomo (ug/g), en sedimentos marinos del Fiordo Aysén.....	89
ANEXO 7.	Concentración de Aluminio (ug/g), en sedimentos marinos del Fiordo Aysén.....	91
ANEXO 8.	Concentración de Manganeso (ug/g), en sedimentos marinos del Fiordo Aysén.	93
ANEXO 9.	Concentración de Vanadio (ug/g), en sedimentos marinos del Fiordo Aysén.....	95
ANEXO 10.	Concentración de Bario (ug/g), en sedimentos marinos del Fiordo Aysén.....	97
ANEXO 11.	Concentración de Cobalto (ug/g), en sedimentos marinos del Fiordo Aysén....	99
ANEXO 12.	Concentración de Boro en sedimentos marinos del Fiordo Aysén.....	101
ANEXO 13.	Concentración de Hierro en sedimentos marinos del Fiordo Aysén.....	103
ANEXO 14.	Concentración de Materia Orgánica (%) en sedimentos marinos del Fiordo Aysén.....	105



1. RESUMEN

En el presente informe se presenta los resultados de la aplicación y evaluación del protocolo de muestreo y análisis de contaminantes en sedimentos marinos, el cual fue desarrollado junto con los protocolos para agua y matrices biológicas en el Informe Técnico N°1 (“Protocolos Armonizados de muestreo y análisis de contaminantes relevantes en el medio marino”). La evaluación se realizó mediante la aplicación de este protocolo a un caso de estudio correspondiente al Fiordo Aysén

El Fiordo Aysén es un ecosistema de alta complejidad, por sus características oceanográficas y por ser una zona que se había mantenido prístina durante los últimos 30 años y que recientemente ha visto incrementar y diversificar su actividad antrópica. Presenta una dinámica de flujo de sus aguas similar al comportamiento de un cuerpo de agua del tipo estuarial.

Durante los últimos años se ha registrado una diversificación en las actividades antrópicas que se desarrollan en la zona destacando particularmente la actividad salmonicultora y con ello el aumento en el número de concesiones solicitadas para su funcionamiento en el fiordo.

El diseño del muestreo consideró un total de 12 estaciones, distribuidas desde la cabeza del fiordo cercana a centros poblados y actividades industriales, hasta estaciones fuera de la boca del estuario.

Los muestreos de sedimento marino se realizaron por medio de buceo y los análisis químicos se centraron en evaluar el contenido de materia orgánica y metales totales.

Los resultados indican altos valores para metales como el Cd, Zn, Pb, Al y Ba para las estaciones ubicadas en la cabeza del fiordo, donde se registran actividades del tipo portuarias y estaciones de servicio de petróleo.



INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

Mientras que estaciones ubicadas hacia la boca del fiordo presenta valores alto en metales tales como Ni, Cu y Al.

Con respecto al contenido de materia orgánica en sedimentos del Fiordo Aysén, destaca el alto valor registrado (9.36 %), en la estación correspondiente a COPEC Factoría, mientras que las restantes estaciones registran valores entre 1 y 4.1 %.



2. INTRODUCCIÓN

El uso, manejo y conservación de los recursos costeros juega un papel primordial en las estrategias de desarrollo regional. La franja regional comprende uno de los ecosistemas naturales más productivos, corresponde a un área de transición e influencia entre la tierra y el mar, donde los procesos de producción, consumo e intercambio de energía se efectúan con una alta intensidad.

La zona de Fiordos del Sur de Chile presenta una situación geográfica muy diversa donde se conjugan variadas áreas biogeográficas que dan origen a una variedad de hábitats. El Fiordo de Aisén al presentar características dinámicas similares a las de estuarios, presenta condiciones especiales y sensibles hacia la presencia de cargas contaminantes en los cuerpos de agua.

Los metales pesados son parte fundamental de las fuentes antropogénicas provenientes de desechos domésticos, agrícolas e industriales, los cuales son peligrosos para la biota marina, el hombre y el deterioro ambiental en general. Bajo este escenario, los sedimentos, uno de los principales reservorios de estos elementos, actúan como recursos secundarios de contaminación en el medio ambiente marino (Rubio *et al.*, 1996). Los metales trazas presentan concentraciones relativamente elevadas en los sedimentos superficiales de las zonas costeras alteradas por el hombre y guardan una relación de su concentración con el tamaño de las partículas y la cantidad de materia orgánica sedimentarias, alterando el equilibrio ecológico y biogeoquímico del ecosistema (Sadiq, 1992). En tal sentido, la determinación de metales en los sedimentos es un buen indicador del origen de los contaminantes en el medio y de los impactos que éstos pueden producir en la biota marina.

Los sedimentos marinos costeros del Fiordo Aisén, son un reservorio de metales traza, donde domina la concentración proveniente de la erosión de las fases detríticas del basamento rocoso



INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

de la región. Los aportes fluviales, atmosféricos, advectivos y antrópicos modifican la concentración natural de metales en el sedimento del sitio.

El presente informe realiza una evaluación del estado ambiental de sedimentos marinos del Fiordo Aisén, en base a análisis de metales y materia orgánica, como objetivo para la evaluación de protocolos de muestreo y análisis propuestos dentro del proyecto “Armonización de protocolos de muestreo y análisis para el modelamiento de la calidad ambiental de estuarios y bahías”.



3. OBJETIVOS

El objetivo principal de este informe es la evaluación de los protocolos de muestreos presentados en Informe Final N°1 (“Protocolos Armonizados de Muestreo y Análisis de contaminantes relevantes en el medio marino”).

Para este fin se presenta el caso del Fiordo de Aysén, en el cual se aplicará y evaluará el protocolo de muestreo para sedimentos marinos y para el análisis químico de materia orgánica y metales para los mismos.



4. CASO DE ESTUDIO

4.1 ECOSISTEMAS DE FIORDOS

Un fiordo es una ensenada estrecha y profunda de la costa debida al hundimiento paulatino de un valle fluvial, o bien tiene su origen en la erosión glacial.

A diferencia de los estuarios costeros y lagunas, los fiordos se caracterizan por presentar largos brazos estrechos conectados con el mar, presentan laderas escarpadas, las profundidades pueden alcanzar cientos de metros.

Una capa o montículo poco profundo se sitúa en la boca del Fiordo, formado por acumulación de rocas en el momento en que el glaciar retrocedió (Figura 1). La altura de este montículo puede provocar un obstáculo en el flujo del agua de fondo del fiordo, limitando la mezcla en aguas profundas e impidiendo el recambio de aguas, de esta forma sólo las aguas superficiales se ven afectadas por el efecto de mareas.

Los fiordos generalmente presentan una alta estratificación de sus aguas, con valores cercanos a la hipoxia en las aguas más profundas (Zhen-Gang, 2008).

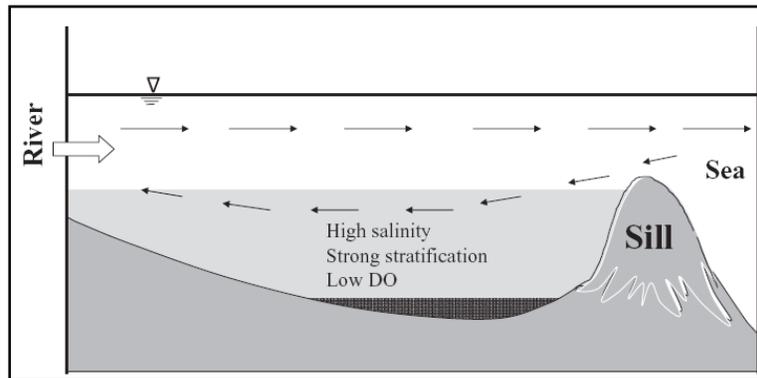


Figura 1. Representación esquemática del flujo de corrientes en ecosistemas de fiordos.

Tabla 1. Características de ecosistemas del tipo Fiordos

TIPO	ANCHO	PROFUNDIDAD	UBICACIÓN	ESTRATIFICACIÓN	MAREAS
Fiordo	estrecho	Profundos (< 200)	Latitudes altas	Estratificación fuerte	Débil en aguas profundas



4.2 ANTECEDENTES DE LA ZONA DE ESTUDIO

a. Características Generales Fiordo de Aysén

Según estimaciones del INE (Instituto Nacional de Estadísticas), la Región de Aysén al año 2010 tiene aproximadamente 104. 843 habitantes, posicionada como la región menos poblada del país, con una densidad de 0.96 habitantes por metro cuadrado.

Las principales actividades económicas y productivas de la región se concentran en torno a las áreas de acuicultura, pesca, minería, turismo, forestal y agropecuaria, siendo el sector pesca – acuicultura el de mayor presencia, aportando en el 2009 un 20 % del Producto Interno Bruto (PIB) Regional.

Debido a las condiciones del suelo y el clima imperante en la zona, otra de las actividades económicas de mayor relevancia es la ganadería, destacando la producción de bovino y ovino, así como también sus subproductos de lana y carne.

Por su parte la minería cobra importancia con la explotación de zinc, actividad que concentra el 96% de la producción de este mineral a nivel nacional, lo que corresponde al 2% de la producción mundial.

El Fiordo de Aysén, corresponde a un sistema complejo de canales, conformando uno de los sistemas estuarinos más grandes del mundo (Palma, 2004).

El fiordo Aysén presenta un valle en forma de U en su sección transversal y la longitud es mayor que su ancho medio. La característica batimétrica más importante de esta zona es la presencia de un umbral de baja profundidad (< 100 m), frente a las islas Cinco Hermanas (45°16' S y 72°47'W), que se ubica en el primer tercio del fiordo. Este umbral separa la parte



INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

profunda del fiordo Aysén en dos microcuencas (una ubicada al Oeste de las Islas Cinco Hermanas y la otra al Este de ésta).

La porción Oeste del fiordo presenta un ensanchamiento hacia la boca y se conecta a los canales Costa y Moraleda, teniendo una profundidad media de 250 m. La porción Este se encuentra aislado de la influencia de la microcuenca. La Oeste es de características más oceánica, debida al efecto que ejerce el umbral (Islas Cinco Hermanas) (Guzmán, 2004).

Entre la isla Cinco Hermanos, y la cabeza del fiordo (desembocadura del río Aysén) el sistema se comportó como un estuario altamente estratificado, sistemas que tienen una alta descarga de agua dulce (río) (Sievers & Prado, 1994)

La capa de agua de baja salinidad se propaga hacia fuera del fiordo por la capa superficial y el agua salina ingresa en una capa inmediatamente inferior adelgazando la capa de agua dulce superficial de 8 a 5 m hacia la boca del fiordo, por efecto de la mezcla (Olivares, 2002).

El fiordo de Aysén tiene una longitud de 65 km y un ancho promedio de 6,5 km. Fue formado durante el holoceno producto de la erosión glacial. Su parte oeste conecta con el océano pacífico por medio del canal de Moraleda.

Presenta una profundidad promedio de 217 m, con una profundidad máxima de 350 m (Figura 1 y 2). La parte interior del fiordo se encuentra aislada de la influencia directa del océano, con la excepción de las corrientes profundas. Las aguas de superficie reciben descargas de agua dulce desde los ríos: Cóndor (50 m s^{-1}), Cuervo (100 m s^{-1}) y Aysén ($500 - 1000 \text{ m s}^{-1}$). (Guzmán, 2004).

Las principales fuerzas de circulación de corrientes en el fiordo están dadas por: las mareas semidiurnas, vientos locales y descargas de ríos.



INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

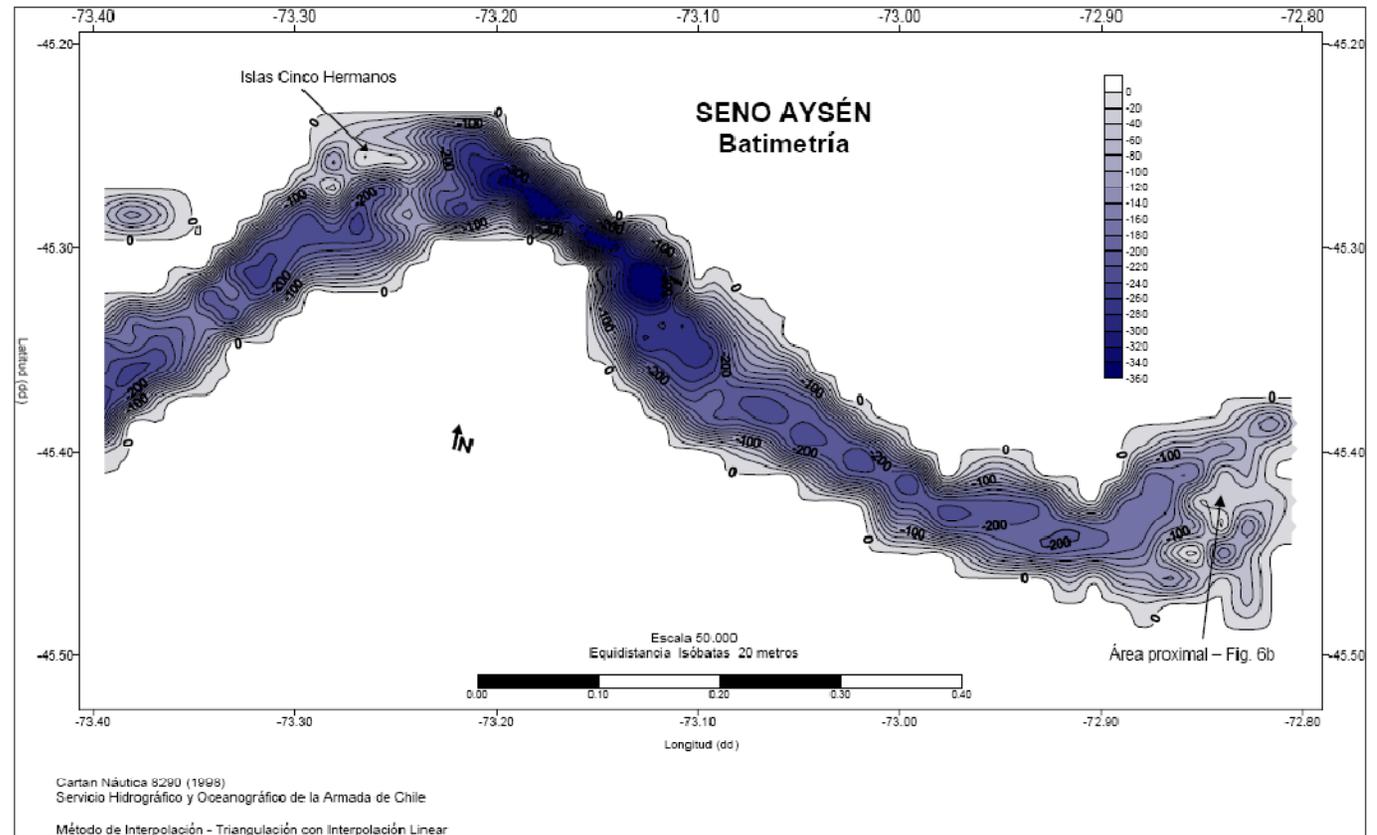


Figura 2. Batimetría Fiordo de Aysén.

Fuente: Vieira, 2002



INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

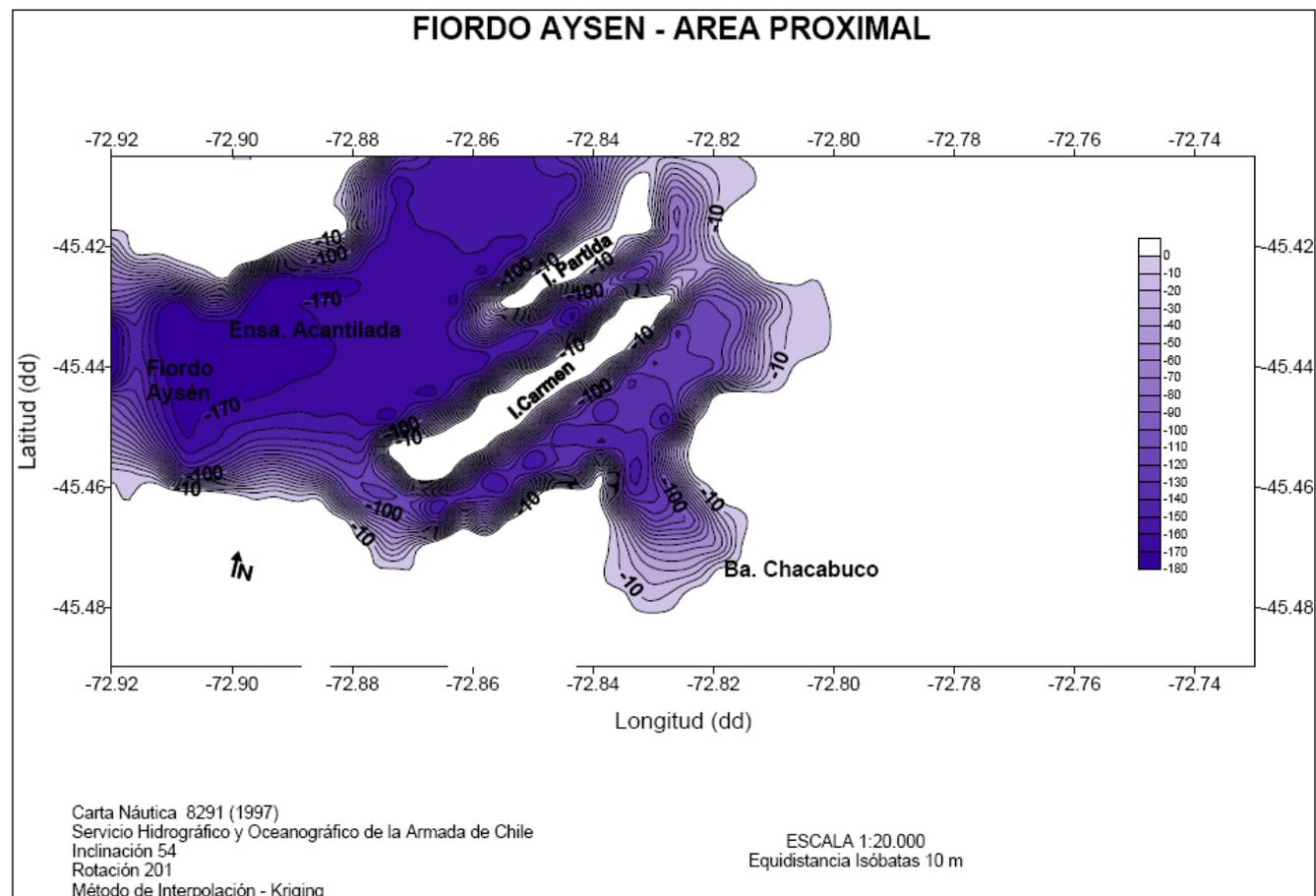


Figura 3. Batimetría Bahía Chacabuco

Fuente: Vieira, 2002



b. Asentamientos humanos

La cuenca abarca las comunas de Coyhaique y puerto Aysén, pertenecientes a las provincias del mismo nombre, en la XI Región de Chile. Posee 33 entidades pobladas de las cuales dos son ciudades, Coyhaique, capital regional y puerto Aysén. De importancia son también, según el número de habitantes, las localidades de Villa Mañihuales, Balmaceda, Villa Simpson y El Blanco. Las restantes localidades son asentamientos rurales.

La distribución espacial de las localidades anteriores, se da principalmente en torno a las vías de acceso, las que se distribuyen junto a los principales cursos fluviales.

Tabla 2. Población total Cuenca del Río Aysén

Nombre Asentamiento	N° Habitantes	Cauces asociados
Coyhaique	50.041	Río Simpson
*Puerto Aysén	15.865	Río Aysén
*Villa Mañihuales	1.665	Río Mañihuales
*Balmaceda	624	Río Oscuro
*Villa Simpson	497	Río Simpson
*El Blanco	418	Río Blanco

Fuente: Dirección General de Aguas, 2004. (INE, Censo 2002)

En el centro de la cuenca se emplaza la ciudad más importante, Coyhaique. Esta se localiza en la ribera sur del río Coyhaique. En el sector costero de la cuenca, desembocadura del río Aysén, se ubica la ciudad de Puerto Aysén.

c. Uso del Suelo

La clasificación del uso de suelo (Figura 4) de la cuenca se resume en la siguiente tabla:

Tabla 3. Clasificación del uso del suelo en la cuenca el Río Aysén.

Cuenca del río Aysén (Ha)	Usos del Suelo	Superficie (Ha)	Superficie de la cuenca destinada para cada uso (%)
1.145.600	Piaderas	190.404	17
	Terrenos agrícolas y agricultura de riego	1.607	0,1
	Plantaciones forestales	6.121	1
	Áreas urbanas e industriales	1.232	0,1
	Minería Industrial	60	0,01
	Bosque nativo y bosque mixto	482.014	42
	Otros Usos*	382.080	33
	Áreas sin vegetación	83.689	7

Fuente: Dirección General de Aguas, 2004.

Uso agrícola: La superficie agrícola de la cuenca, contempla sólo 1.607 Ha de terrenos agrícolas. En la comuna de Coyhaique, se dan cultivos principales de cereales, chacras, hortalizas y plantas forrajeras. Mientras cultivos como viñas, frutales, cultivos industriales entre otros no se producen. Por su parte en la comuna de Aysén, los principales son los cereales, chacras, hortalizas y plantas forrajeras.

Uso Forestal: El uso forestal en la cuenca, se da solo en algunos sectores. Las plantaciones forestales (6.121 Ha), distribuidas en las comunas de Coyhaique y Aysén, representan un porcentaje bajo en comparación a la explotación de especies nativas. De esta manera, la undécima región sólo aporta con el 0,6% de la producción nacional de madera aserrada



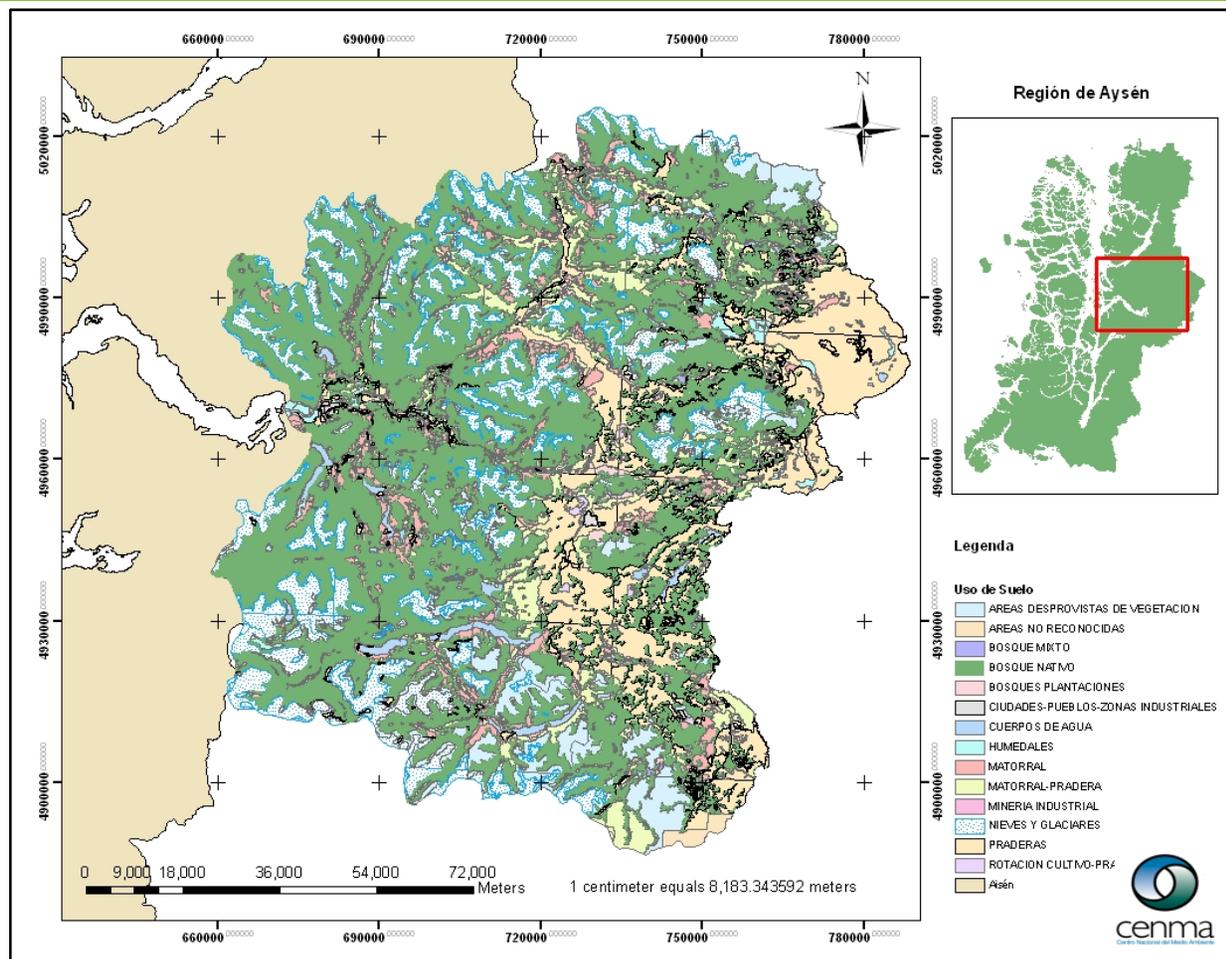
(principalmente pino radiata). Otras plantaciones forestales existentes en la zona y de origen nativo, corresponden al bosque de Lenga.

Uso Urbano: La vastedad del territorio y el volumen de población concluyen en una muy baja densidad, de sólo 0.9 habitantes por km², a nivel regional. La población urbana alcanza al 75% en la región, situándose en unas pocas localidades, destacando Coyhaique y Puerto Aysén (además de Cochrane), las que concentran el 77,6 % de la población del territorio. El uso urbano está representado por ciudades, pueblos y zonas industriales, abarcando 1.232 Ha. La superficie destinada a la minería industrial, es de 60 Ha.

Puerto Aysén se sitúa a 67 km al oriente de Coyhaique, cerca de la desembocadura del río Aysén. Se trata de una localidad costera, que antiguamente fue el puerto de entrada a la región y que luego del maremoto de los años sesenta quedó más al interior, siendo reemplazada en esta función por Puerto Chacabuco. Tiene un total de 15.865 habitantes (según estimación al año 2002) y junto a Coyhaique poseen sobre el 80% de su población urbana. Destacan los usos del suelo residencial e industrial.

Áreas bajo protección oficial y conservación de la biodiversidad: Las Áreas bajo Protección Oficial que se emplaza en la cuenca, corresponden al Monumento Natural Dos Lagunas y las Reservas Nacionales de Mañihuales, Trapananda, río Simpson, Coyhaique y Cerro Castillo. La superficie total que ocupan estas áreas bajo Protección Oficial pertenecientes al Sistema Nacional de Áreas Silvestres Protegidas por el Estado (SNASPE), alcanza las 138.356 Ha equivalentes al 12% de la superficie total de la cuenca.

Figura 4. Mapa de uso de suelo
 Cuenca del RíoAysén
 (WGS 84, 18S UTM)
Fuente: Elaboración propia, en
 base cartografía Informe DGA,
 200





d. Usos del Borde Costero

Producto de un trabajo comenzado el año 2001 y culminado el año 2005, la Región de Aysén es la primera del país en contar con una zonificación Regional del Uso Borde Costero, consagrada en el D.S N° 153 Del Ministerio de Defensa Nacional, Subsecretaría de Marina del 20 de Mayo de 2004.

Esta zonificación se basa en el concepto de preferencialidad, es decir, de zonas orientadas a cumplir preferentemente una o varias funciones territoriales, que deben ser conservadas y desarrolladas en el tiempo. Esto no excluye otras funciones, sino que les establece criterios de compatibilidad, a fin de demostrar que no perjudican el potencial que el territorio presenta para el desarrollo de la función preferencial.

De este modo las zonas preferenciales zonificadas para el borde costero son (Figura 5):

- Para la extracción de recursos bentónicos, que corresponden principalmente a las áreas de extracción de recursos bentónicos utilizadas históricamente por los pescadores artesanales (mariscadores), y además considera las proyecciones de la actividad.
- Para la acuicultura o salmonicultura, se han destinado las áreas ya utilizadas por la actividad y considera espacio para sus proyecciones.
- Para el turismo se han incluido sectores identificados por su potencial escénico para el desarrollo turístico actual y proyectado.
- Para la conservación se han determinado zonas fuertemente impactadas por actividades humanas, en las cuales es necesario regular la intensidad de los usos, en pos de la recuperación de los ecosistemas.

La variada geografía de la Región de Aysén presenta territorios marítimos donde la acuicultura y la pesca encuentran condiciones muy favorables, lo que sumado a la saturación que presenta



INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

la Región podría dar cuenta del 70% de la expansión futura del cultivo del salmón del atlántico, como pilar central de la actividad acuícola.

Se indica en figura 6, las solicitudes de concesión de acuicultura al año 2008 y las industrias salmoneras en funcionamiento, para el sector de Fiordo de Aysén.

Figura 5. Zonificación del borde Costero de la zona de Fiordo de Aysén.
(WGS 84, 18 S UTM)
Fuente: Elaboración propia, en base a cartografía proceso de zonificación del borde costero Región de Aysén.

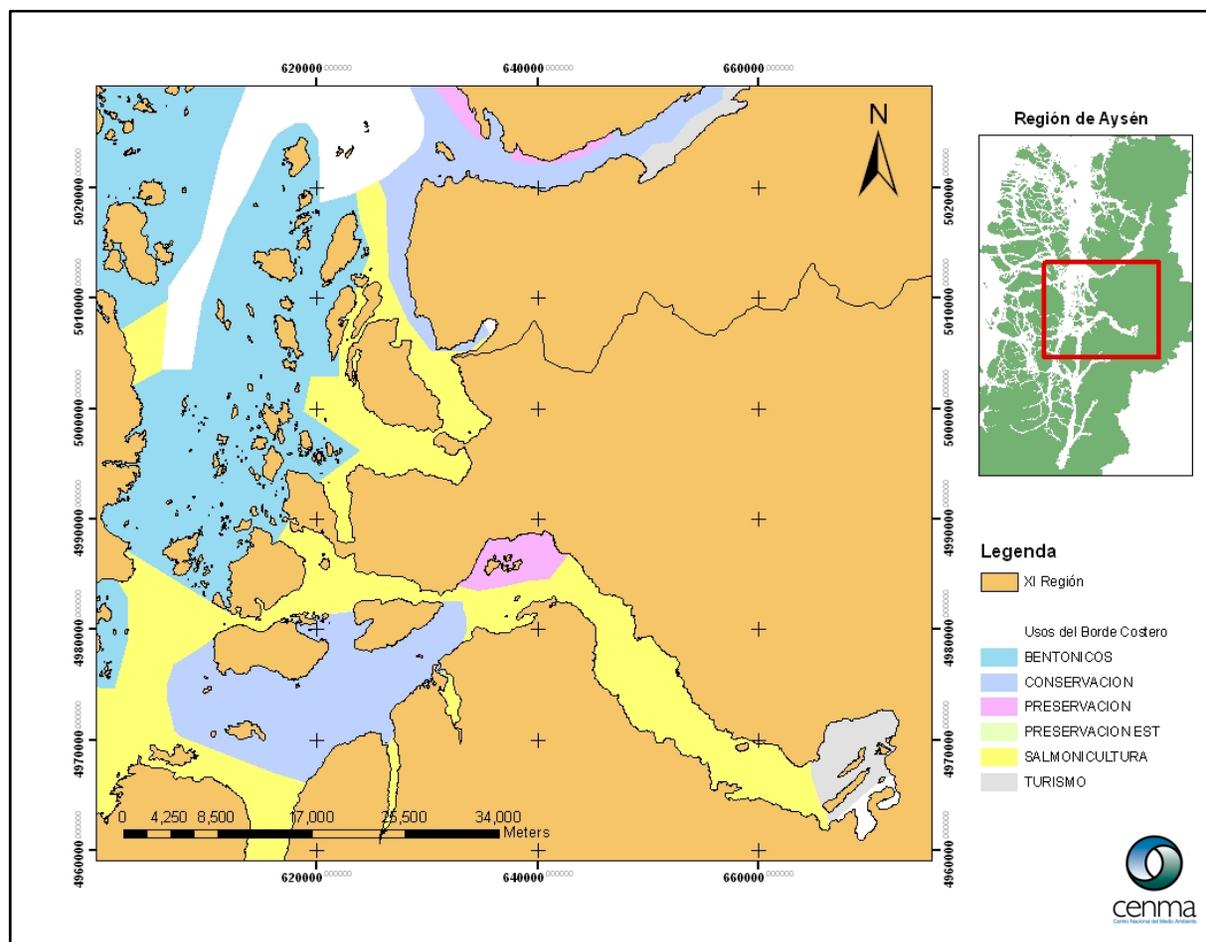
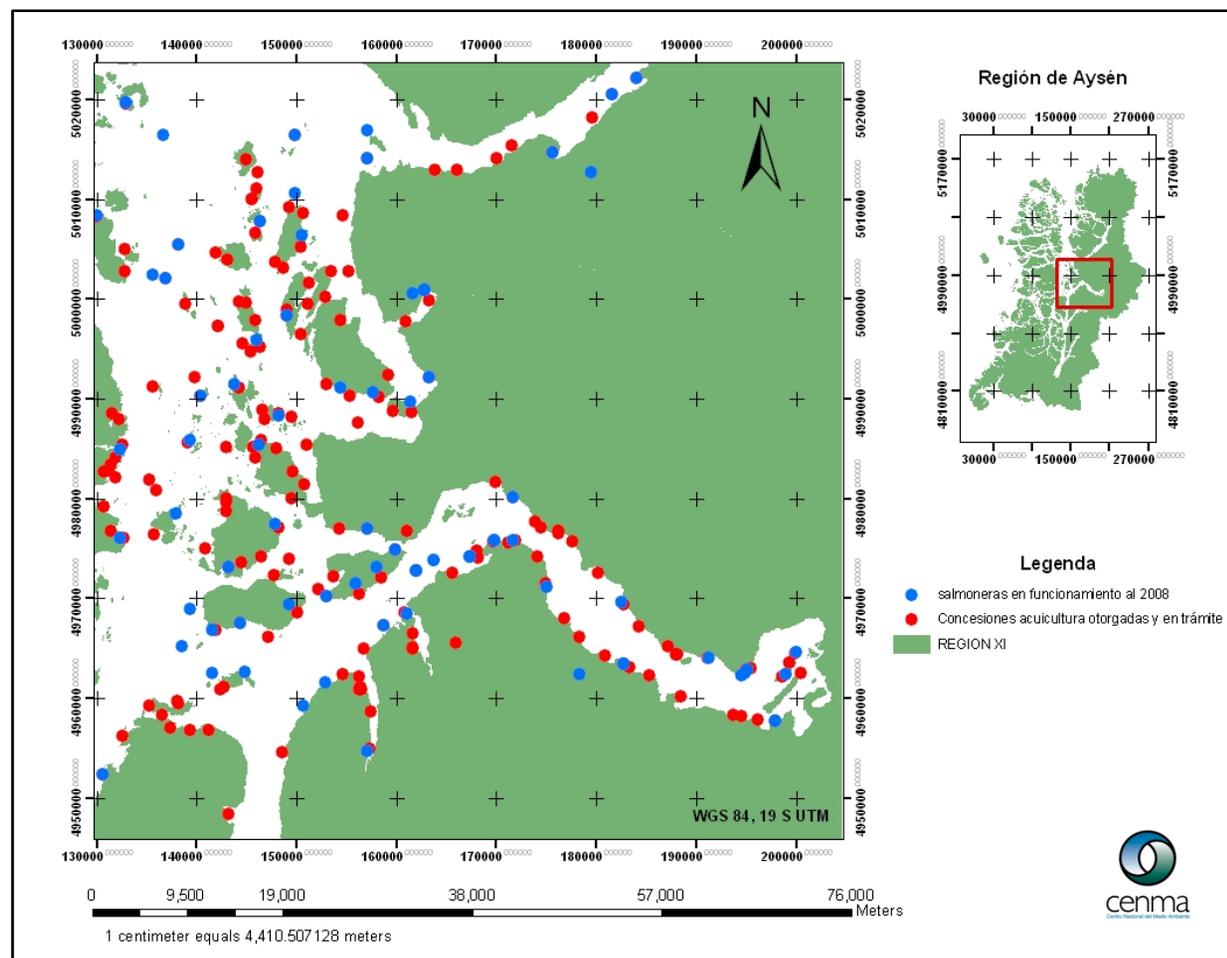


Figura 6. Concesiones acuícolas otorgadas y salmoneras en funcionamiento al año 2008. (WGS 84, 19 S, UTM).

Fuente: Elaboración propia, capas descargadas desde SERPLAC AYSÉN.





e. Descargas

Aguas servidas

Con respecto a la situación actual que presentan las aguas servidas en la cuenca, la ciudad de Coyhaique a noviembre de 2002, posee una planta de tratamiento que depura las aguas servidas de la ciudad, la cual vierte al río Simpson un caudal de 6610 (m³/ día). En tanto la Ciudad de Puerto Aysén vierte al río del mismo nombre, un caudal de 2218.56 (m³/día) (Figura 7) sin tratamiento previo, con una carga orgánica de DBO₅ 555 (kg/día). (Tabla 4).

Descargas Industriales

La contaminación puntual industrial en la cuenca no es significativa de acuerdo al número de establecimientos industriales existentes. La única industria que se encuentra en la zona corresponde a Salmones Antártica S.A, la cual descarga sus riles directamente al curso superficial. (Tabla 5).

En la figura N° 7, se indican las actividades en la cuenca y la representación de las principales descargas.



INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

Tabla 4. Descargas de aguas servidas en la cuenca del Río Aysén

Localidad	Segmento Asociado a La Descarga	Cuerpo Receptor	Empresa de Servicios Sanitarios	Cobertura de Tratamiento de Aguas Servidas (%)	Población Estimada Total (Hab)	Población Estimada Sanada (Hab)	Planta de Tratamiento y/o Tipo de Tratamiento	Nombre de la Planta	Caudal (L/s)	DBO ₅ (mg/l)	pH	Sólidos Suspendedos Totales (mg/L)	Aceites y Grasas (mg/l)	Ca Total (mg/l)	Fe disuelto (mg/l)	Colif. Fecles (NMF/100 ml)
COYHAIQUE	1131SI40	Río Simpson	EMSSA S.A.	97,1	42,554	41.333	SI	Zanjas de Oxidación	76,5	35	6,0 - 8,5	80	20	0,1	2	< 1,0E+03
PUERTO AYSÉN	1134AY20	Río Aysén	EMSSA S.A.	0	15,389	13,866	NO		25,7	35	6,0 - 8,5	80	20	0,1	2	< 1,0E+03
VILLA MANIHUALES	1130MA20	Río Manihuales	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd		ND	35	6,0 - 8,5	80	20	0,1	2	< 1,0E+03
BALMACEDA	1131OS10	Río Oscuro	EMSSA S.A.	Nd	530	Nd	NO			35	6,0 - 8,5	80	20	0,1	2	< 1,0E+03
VILLA SIMPSON	1131SI30	Río Simpson	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd		ND	35	6,0 - 8,5	80	20	0,1	2	< 1,0E+03
EL BLANCO	Sin Ubicación	ND	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd		ND	35	6,0 - 8,5	80	20	0,1	2	< 1,0E+03

Fuente: CADE - IDEPE, 2004

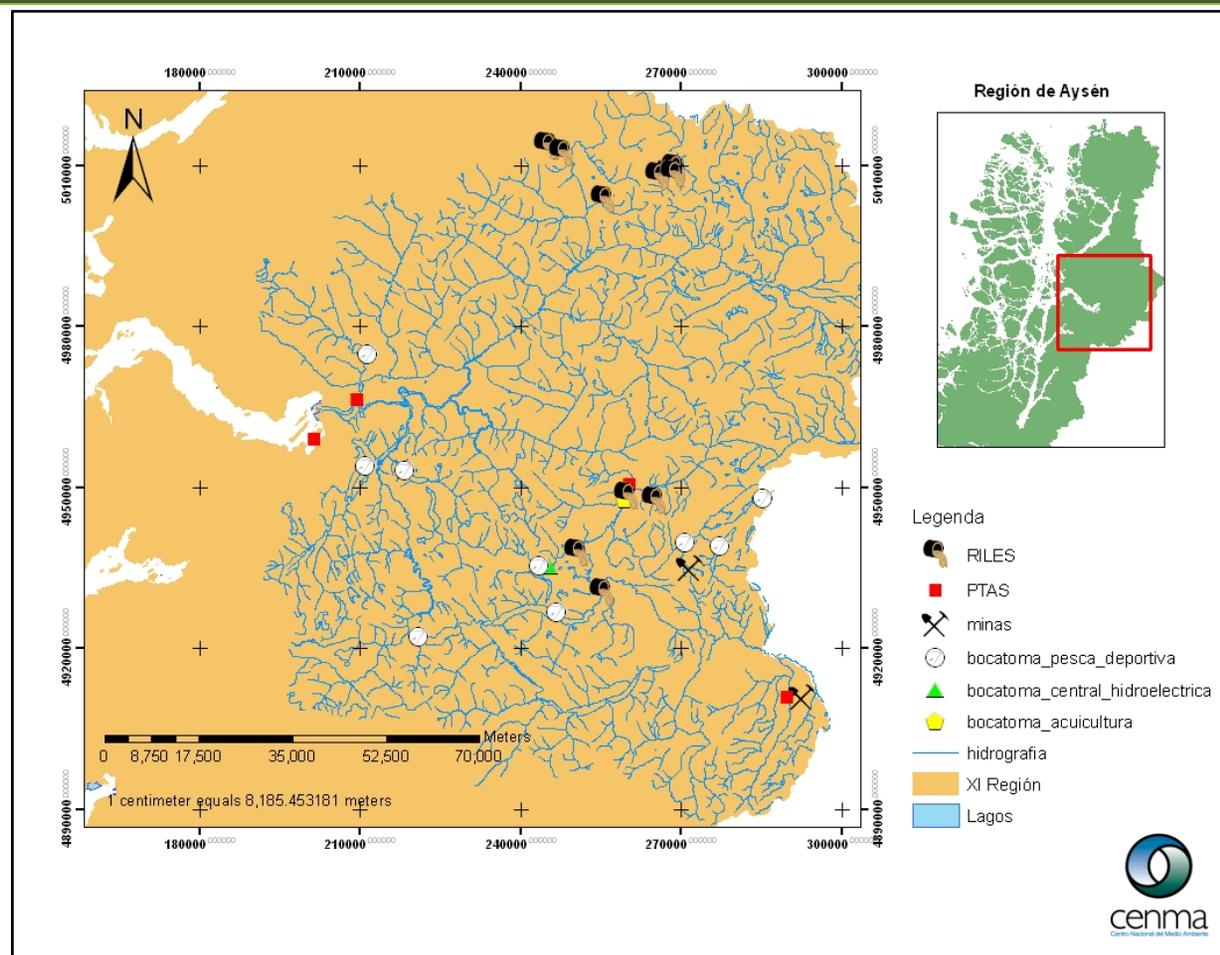
Tabla 5. Descargas Industriales en la Cuenca del Río Aysén

Industria	Segmento (Ubicación Industria)	Comuna	Cuerpo Receptor	CIU	Caudal (L/s)	pH	T (°C)	SS	S.D.	Aceites y Grasas	HC	DBO ₅	As	Cd	CN ⁻	Cu	Cr	P	Hg	Ni	NH ₄ ⁺	Pb	SO ₄ ^m	Zn	FE	B	Al	Mn
SALMONES ANTÁRTICA	1134AY20	Puerto Aysén	Río Aysén	31141	277,8	*	*	370	*	*		440									*			*				

Las unidades de concentración de parámetros físico – químicos se encuentran expresados en mg/L

Fuente: CADE – IDEPE, 2004

Figura 7. Descargas en la Cuenca del Río Aysén y actividades productivas (WGS 84, 19 S, UTM)



Fuente: Elaboración propia



5. METODOLOGÍA

5.1 MUESTREO DE SEDIMENTOS MARINOS

a. Estaciones de Muestreo

Se requiere que los criterios para el establecimiento de las estaciones de muestreo sean flexibles, esto debido principalmente a la variabilidad del ambiente a monitorear (características del cuerpo de agua, estacionalidad, geología y sedimentos, etc.).

Los criterios considerados contemplaron los objetivos del estudio, el acceso a las estaciones, información histórica disponible, etc.

En términos generales las estaciones de muestreo suelen ubicarse en:

- Desembocaduras de principales tributarios
- Cercana a la costa en zonas de descargas de proyectos importantes, actividades extractivas, emisarios, centros urbanos
- Zonas de mayor profundidad (generalmente en lagos)
- En zonas de extracción de aguas y/o
- Zonas limítrofes (provinciales o regionales o internacionales) (Cavanagh *et al.*, 1998)

Para el seguimiento de tendencia en los parámetros evaluados o monitoreados, la estación de muestreo debe proveer una indicación de cambio en la calidad dentro del cuerpo de agua en estudio.

Para un monitoreo de línea base, donde el propósito es establecer la condición general del cuerpo de agua, las estaciones deben seleccionarse con el objeto de detectar tantas descargas como sea posible.

Para el monitoreo de impactos, una inspección preliminar de las actividades que ese realizan en la zona de estudio puede proveer una guía con respecto a la ubicación de las estaciones de monitoreo.



INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

Para la obtención de los niveles de fondo (background level) un segundo punto de control debe ser localizado en puntos de descarga directa.

De esta forma se establecieron un total de 12 estaciones de muestreo, las que consideraron estaciones predefinidas en el Programa de Observación Ambiente Litoral (POAL) de la Armada de Chile. Las estaciones definidas incluyen zonas de desembocaduras de principales tributarios, zonas cercanas a áreas urbanas y actividades industriales, zonas de importancia para la conservación y estaciones fuera de la zona del fiordo mismo

La identificación y ubicación de las estaciones se indican en tabla 6 y figura 8.



INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

Tabla 6. Estaciones de muestreo Fiordo de Aysén.

NOMBRE	COORDENADAS	
	Latitud	Longitud
Islas Huinchas	45° 08' 48.9 S	73° 36' 54.5 W
Isla Elena	45° 16' 38.8 S	73° 36' 58.1 W
Cinco hermanas	45° 15' 50.6 S	73° 15' 54.3 W
Desembocadura Río Cuervo	45° 20' 52.9 S	73° 03' 17.9 W
Desembocadura Río Pescado	45° 23' 57.8 S	73° 05' 05.7 W
Bahía Puerto Camello	45° 27' 03.2 S	72° 59' 43.6 W
Desembocadura Río Cóndor	45° 27' 58.3 S	72° 53' 08.2 W
Desembocadura Río Aysén	45° 25' 12.4 S	72° 49' 31.9 W
Caleta Bluff	45° 28' 28.4 S	72° 52' 28.7 W
Estación COPEC Factoría	45° 27' 42.1 S	72° 49' 36.0 W
Bahía Chacabuco	45° 28' 14.8 S	72° 50' 20.6 W
Puerto Chacabuco	45° 28' 21.7 S	72° 49' 52.6 W

FIORDO AYSÉN, XI REGIÓN, GENERAL CARLOS IBAÑEZ DEL CAMPO

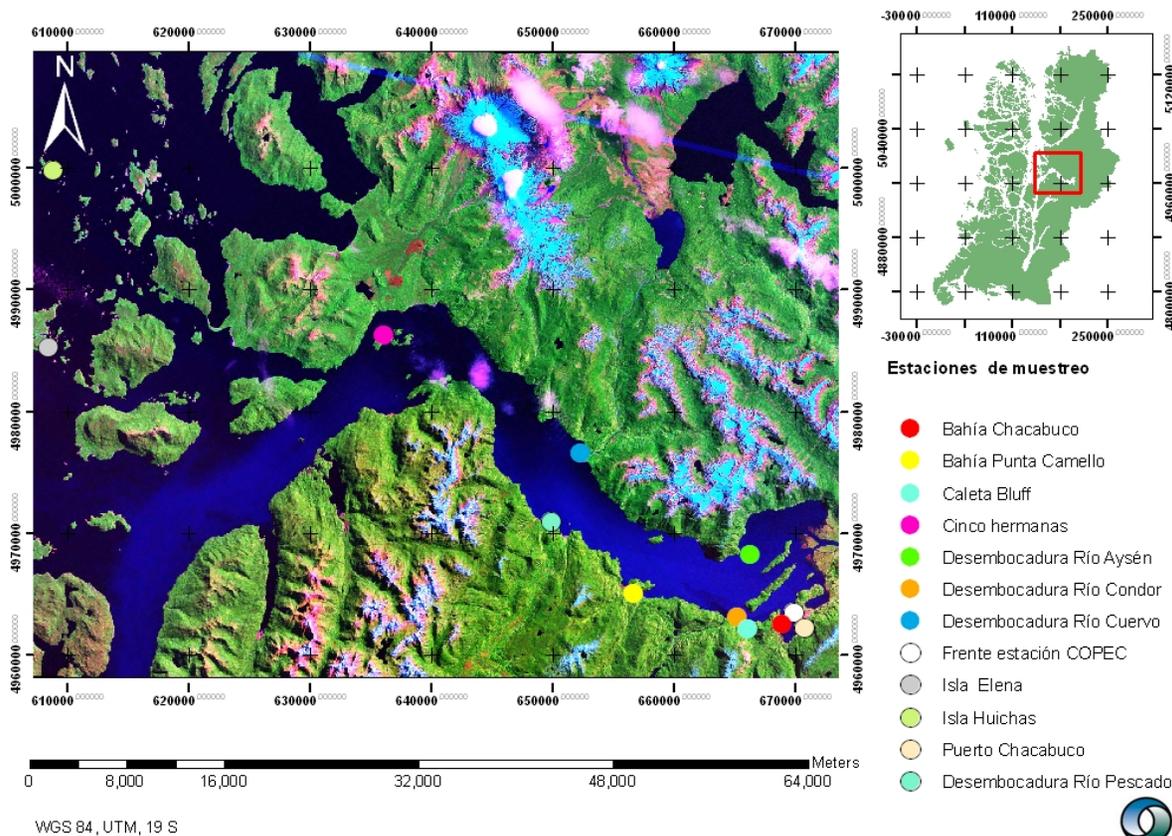


Figura 8. Área de estudio, Fiordo de Aysén (WGS 84, 18S UTM)

Fuente: Elaboración propia



b. Muestreo de sedimentos marinos

El área de muestreo se centró en la disponibilidad de sustrato disponible y predominante. La toma de muestra de sedimento se realizó mediante buceo y toma de muestra por medio de tubo corer.

Para la toma de muestra se siguió el protocolo establecido en informe N° 1, en el cual se siguieron los siguientes pasos:

- Identificar el punto o estación de muestreo con ayuda de carta náutica o mapa de la zona
- Aproximación al sitio
- Verificación de la profundidad, cuando la profundidad era mayor de 50 metros, se procedía a abortar la toma de muestras en ese punto; una profundidad menor a 50 metros permite realizar la toma de muestra sin riesgo para el buzo
- Se procede a una inspección visual del sitio, identificando el tipo de fondo según las condiciones de la costa.
- Presencia de sedimentos del tipo arena y fango permiten continuar con el muestreo, mientras que la presencia de sedimento duro del tipo roca impiden el muestreo
- Se deben evaluar de antemano las condiciones de seguridad para el muestreo mediante buceo, medición de la dirección y magnitud de la corriente y viento, de manera que permita evitar el muestreo en zonas donde el arrastre por corriente significa un riesgo para el buzo
- Se deben registrar la coordenadas del punto a muestrear y la hora de llegada
- Cuando el muestreo se realiza en desembocaduras de ríos, se debe preferir el área de sedimentación por sobre el área de corriente (Figura 9).
- Llevar un registro fotográfico de las estaciones de muestreo, así como de los procedimientos de muestreo



INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

- Los buzos se sumergen con los tubos corer y bolsa del tipo ziploc (para almacenar la muestra de sedimentos con organismos)
- Una vez en superficie se procede a la inspección de las muestras colectadas, las muestras de sedimentos con organismos almacenados en la bolsa ziploc se despliega sobre una superficie lisa y limpia inspeccionándose la presencia de algún organismo (Figura 11)
- Tomar fotografía de los organismos
- Se conservan los organismos identificados si se tiene por objeto realizar análisis.
- Si no son objeto d análisis los organismos son devueltos
- Para el caso de la muestra de sedimentos contenida en el corer, se procedió de la siguiente forma, se vació el agua sobrante en superficie, se inspecciona el sedimento registrando el color, olor y textura, se procedió vertiendo la muestra de sedimentos en una bolsa tipo ziploc, se rotula y se procedió a congelar la muestra (Figura 10).



Figura 9. Zona de muestreo en desembocaduras de ríos.



INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

Tabla 7. Estaciones de muestreo y código de muestra

ESTACIÓN	N° muestra
Isla Huichas	41041
Isla Elena	41042
Cinco Hermanas	41043
Desembocadura Río Cuervo	41044
Desembocadura Río Pescado	41045
Bahía Punta Camello	41046
Desembocadura Río Cóndor	41047
Desembocadura Río Aysén	41048
Caleta Bluff	41049
Estación COPEC factoría	41050
Bahía Chacabuco	41051
Puerto Chacabuco	41052

Las muestras de sedimentos marinos fueron llevadas al laboratorio de Química Ambiental del Centro Nacional del Medio Ambiente para su análisis.

Tabla 8. Profundidades de muestreo y características del sedimento

ESTACIÓN	PROFUNDIDAD (m)	FAUNA PRESENTE	CARACTERÍSTICAS SEDIMENTO
Isla Huichas	10	picorocos, estrella de mar, caracoles, erizo, almejas	con presencia de conchas molidas
Isla Elena	6	Estrella de mar, jaibas	sedimento con presencia de conchilla
Cinco Hermanas	4.5	sargazo en orilla	-
Desembocadura Río Cuervo	9	presencia de crustáceos	sedimento oscuro con materia vegetal, del tipo fango
Desembocadura Río Pescado	5.6	poliquetos, caracoles, almejas (juveniles)	sedimento negro fino , mezclado con restos de conchas y bolones
Bahía Punta Camello	3	no se registra presencia de organismos	sedimento fino de color negro
Desembocadura Río Cóndor	3.7	presencia de juveniles de almejas	Sedimento oscuro, sin presencia de grandes organismos
Desembocadura Río Aysén	13.6	-	Sedimento negro fino, tipo arena
Caleta Bluff	3.6	-	Sedimento oscuro tipo arena sin presencia visual de organismos
Estación COPEC factoría	21	-	Sedimento fino tipo fango de color negro
Bahía Chacabuco	10	presencia de poliquetos, choritos, juveniles de almeja	Sedimento pardo oscuro tipo arena fina - media
Puerto Chacabuco	14	Presencia de choritos	Sedimento oscuro con presencia de conchillas

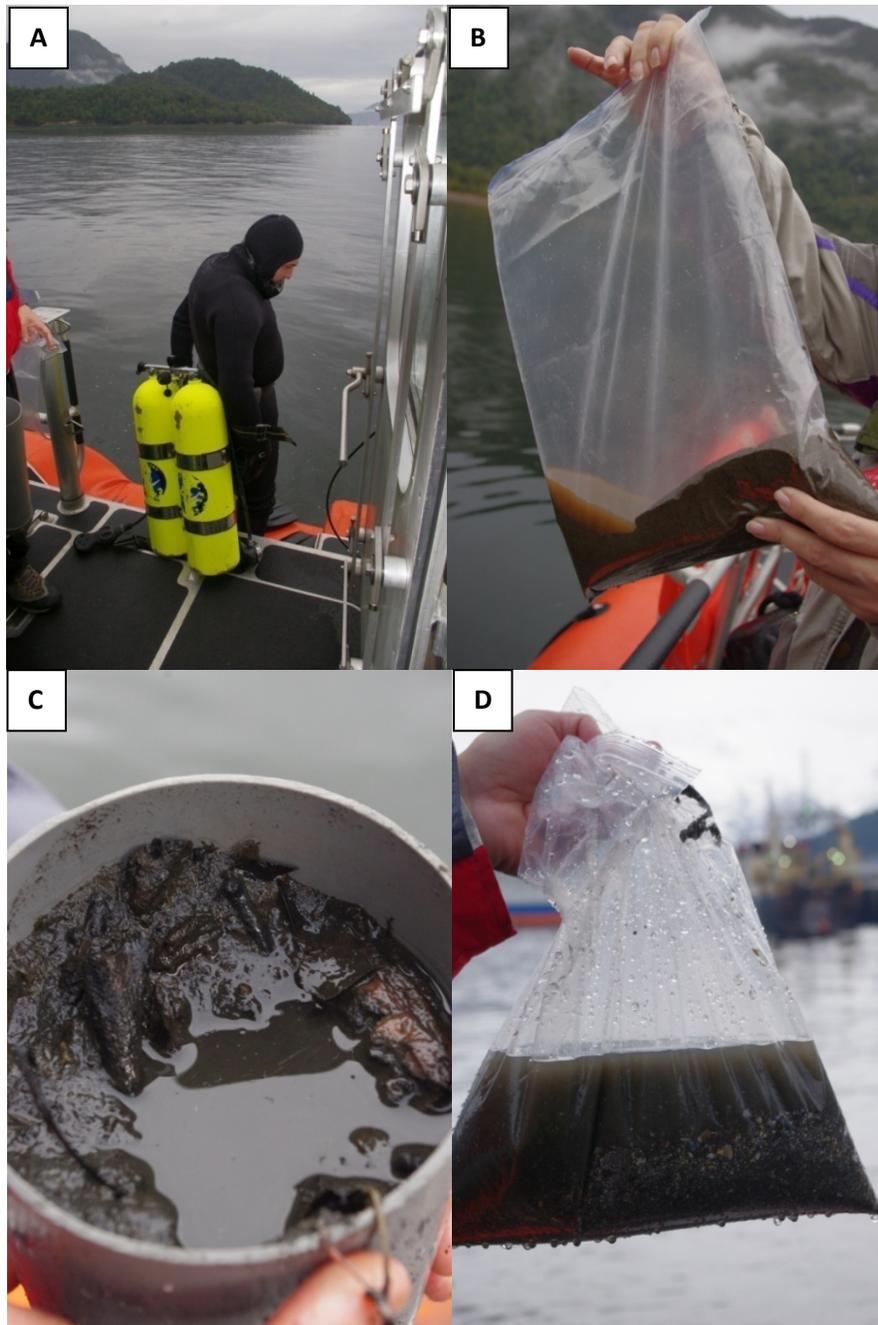


Figura 10. A. Muestreo por medio de buceo; B y D. Muestras de sedimentos marinos; C. Corer con muestra de sedimento.



Figura 11. Organismos recolectados en muestras de sedimentos. A. corer con sedimentos; B y E. Poliquetos; C, D y E. Moluscos bivalvos.

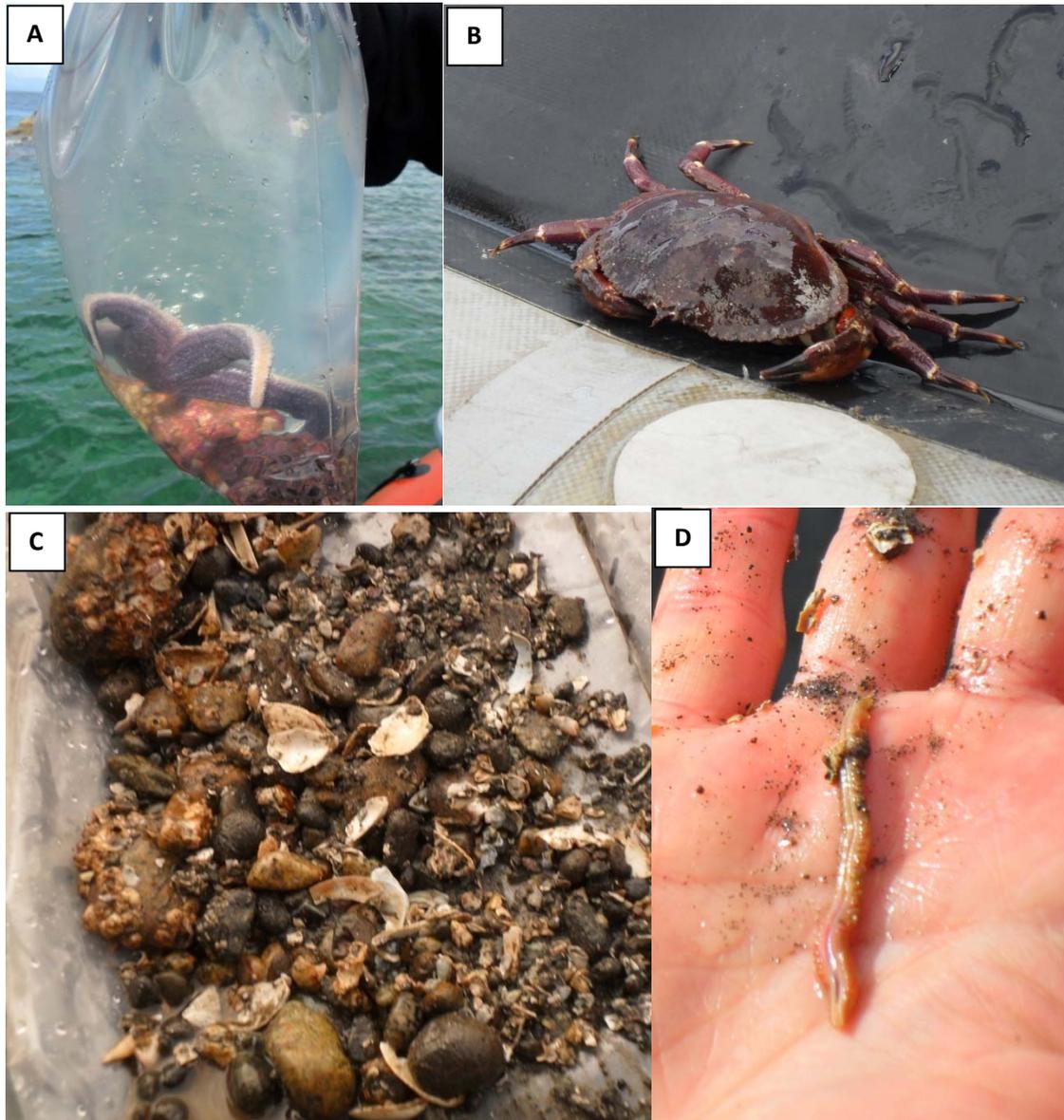


Figura 12. Organismos recolectados en muestras durante el muestreo de sedimentos. A. Estrella de mar; B Jaiba; C. Sedimento en base a restos de conchas; D. Poliqueto



5.2 ANÁLISIS DE SEDIMENTOS

a. Materia orgánica

Las muestras de sedimentos marinos fueron analizadas utilizando el método gravimétrico.

La materia orgánica total sedimentada está constituida por compuestos orgánicos y algunas formas elementales del carbono. El método para determinar la materia orgánica volátil en sedimento se basa en la incineración del sedimento en una mufla a 450 °C, durante 2 horas, calculándose el tanto por ciento de pérdida de peso de la muestra que es equivalente a la materia orgánica en la misma.

La muestra de sedimento se depositó en una bolsa de nylon (del tipo ziploc) permaneciendo en congelación hasta su llegada al laboratorio, donde se secó en estufa a 110 °C por 24 horas. Una vez seca se tritura en un mortero y se pasa por un tamiz de 0,2 mm. El sedimento triturado se guardó en un frasco de vidrio con tapa y debidamente rotulado.

Se utilizaron los siguientes equipos para la realización del análisis:

- Crisoles de porcelana.
- Balanza analítica de sensibilidad 0,0001 mg. (205 ASCS)
- Mufla eléctrico (FisherScientific)

El procedimiento para el análisis de materia orgánica fue el siguiente, se pesó 1,0 g de la muestra seca en un crisol previamente tarado. El crisol con la muestra se coloca en el horno mufla y se mantuvo a una temperatura de 450° C durante 2 horas, luego se colocó en una desecadora y una vez alcanzada la temperatura ambiente se pesó.



El cálculo se realizó aplicando la siguiente fórmula:

$$MO \% = \frac{P_1 - P_2}{P_1} \times 100$$

Donde:

P₁: Peso del crisol con muestra antes de incinerar

P₂: Peso del crisol con muestra incinerada

b. Metales

Los metales asociados a la materia orgánica deben convertirse a una forma en la que pueden leerse por espectroscopia.

En los sedimentos los metales pueden constituir varias fracciones, por tal motivo el análisis de la muestra puede realizarse por duplicado: una digestión débil en la fracción total del sedimento con el fin de obtener los metales biodisponibles y una extracción fuerte para determinar el contenido total.

El método aplicado correspondió a una extracción con HCL (0.1N), con agitación por 24 horas y determinación cuantitativa por técnica espectrométrica (Absorción o Emisión Atómica Inductivamente Acoplada – ICPS).

Para la extracción débil se pesó 1 a 3 g de muestra, la cual fue transferida a un matraz Erlenmeyer, se le agregó por cada gramo de muestra, 15 mL de solución de HCl 0.1 N.



Luego de dejar agitando por 24 horas, se procede a filtrar la muestra, colectando el filtrado en balones volumétricos.

Se completó el volumen con la solución de HCl 0.1 N y se cuantifica por espectrometría.

Para la extracción fuerte se pesó 0.4 g de sedimento seco y tamizado. Se agregó 3 mL de HNO₃ concentrado. Se adicionó 1 mL de HClO₄ concentrado. Se dejó reaccionar y se procedió a calentar a 100°C por 16 horas. Luego se filtró, el filtrado resultante se colecta en balones aforados de 10 mL completando el volumen con HCl 0.1 N. Se cuantificó por espectrometría de Absorción o Emisión Atómica (ICP).

La determinación de cada metal (ug/g), se realiza refiriéndose a la curva de calibración correspondiente:

$$C_m = \frac{C_e \times V_e}{W_m} \times f$$

Donde:

C_m = Concentración de la muestra (µg/g)

C_e = Concentración del extracto (µg/ml)

W_m = Peso de la muestra seca utilizada para el análisis (g)

V_e = Volumen del extracto (ml)

f = Factor de dilución

Por otra parte se realiza un análisis de metales pesados mediante la prueba de otro método analítico, con el objeto de comparar la efectividad en la determinación contrastando con el método ICP.

El método utilizado corresponde a la Espectrometría de fluorescencia de rayos x.

La técnica se basa en la emisión de radiación X característica, en el rango de 1 a 60 K eV (electrovoltio). Esta emisión es resultado de la excitación y posterior reordenamiento de los



electrones ubicados en los niveles de energía internos del átomo por una fuente de energía externa.

La relación entre la intensidad de fluorescencia medida para un determinado elemento A y su concentración se puede expresar como:

$$C_A = KI_A MS$$

Donde:

C_A y I_A : Concentración e intensidad de fluorescencia

K: Constante que depende de la geometría del espectrómetro y de las condiciones de trabajo del equipo (voltaje, corriente, detector, etc.)

M: Factor que define los efectos interelementales que sufre el elemento A con los restantes elementos que componen la muestra (efecto de matriz)

S: Define la influencia del tamaño de partícula y de textura de la muestra en la intensidad de fluorescencia observada para el elemento A (efecto de tamaño de partícula)

La técnica de fluorescencia de rayos x, es adecuada para el análisis de muestras sólidas, como minerales, suelos o vegetales.

- Análisis de elementos trazas en suelos y minerales

Para el análisis de elementos traza, es decir elementos en concentraciones del orden de los mg kg^{-1} , el procedimiento de acondicionamiento más adecuado para la muestra es la obtención de una pastilla (pressed pellets). Esta pastilla se prepara sometiendo la muestra a una molienda fina, que resulte en tamaños de partícula final inferiores a $60 \mu\text{m}$, y efectuando posteriormente un prensado del polvo obtenido. Adicionalmente, se deben tener en cuenta las siguientes consideraciones para asegurar buenos resultados en la etapa de lectura por FrX:



INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

- a) En el caso de muestras sólidas y una vez terminada la molienda, éstas deben ser sometidas a un proceso de secado. El tiempo empleado en este proceso será el necesario para llegar a la condición de secado denominada peso constante. por peso constante se entiende un nivel de secado de la muestra tal que los cambios de masa sean inferiores a 0,5 mg en dos operaciones sucesivas consistentes en secar en estufa, enfriar y pesar. para muestras de minerales y suelos, el secado debe realizarse a una temperatura entre 103-105 °C.
- b) La adición a la muestra pulverizada de un diluyente de baja absorción (carbonato de litio, ácido bórico, carbón o papel de filtro) ayuda a reducir los efectos de absorción-refuerzo. Para la determinación de elementos de número atómico alto en matrices de número atómico bajo, es conveniente añadir a la muestra un compuesto con coeficiente de absorción másico alto, como el óxido de lantano, con el fin de incrementar la linealidad de las rectas de calibración.
- c) Para obtener una buena compactación en las pastillas, se suele añadir un aglomerante en pequeña cantidad (generalmente entre el 5 al 10% de la cantidad total de la muestra), los aglomerantes más utilizados son el ácido bórico, ácido esteárico, nitrocelulosa y ceras comerciales.

Se deberá tener presente el efecto matriz, por lo que en la obtención de las rectas de calibrado se debe definir claramente la matriz que se ha usado. En el caso de analizar muestras con diferente matriz a la de los patrones, es necesario efectuar correcciones consistentes en cálculos numéricos de las interacciones entre los elementos que componen cada matriz o bien mediante el empleo de patrones internos.



6. RESULTADOS

Los resultados de los análisis de materia orgánica y metales en sedimentos del Fiordo Aysén se presentan a continuación.

a. Materia Orgánica

Los aportes de materia orgánica en el fiordo de Aysén provienen tanto de componentes naturales del ecosistema (autóctono) como de actividades antrópicas (alóctono).

Dentro de las fuentes naturales es posible destacar es el fitoplancton, el suelo en conjunto con el bosque nativo y las comunidades bacterianas. Las últimas que reciclan el material proveniente de procesos de autotrofia, mineralizando o biodegradando el detritus resultante de los procesos de la malla trófica (Orellana, 2006).

Dentro de los componentes antrópicos, es posible destacar: las descargas directas provenientes de la industria salmonicultora y otros productos marinos, así como la pesca industrial, artesanal y mataderos ubicados tanto en Puerto Aysén como en Puerto Chacabuco. Las ciudades de Coyhaique, Puerto Aysén y Puerto Chacabuco constituyen otro componente debido a su aporte por descargas de aguas servidas, de uso doméstico tratadas y no tratadas y otros aportes atribuibles a la actividad portuaria y a los terminales de descarga de petróleo en Puerto Chacabuco (Orellana, 2006).

En la tabla N°8 se presentan los resultados del análisis de materia orgánica para los sedimentos recolectados en Fiordo de Aysén. Los resultados por estación de muestreo se grafican en figura12.



INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

De acuerdo a los resultados registrados para los análisis de materia orgánica en sedimentos, la estación COPEC Factoría es la que registra el mayor porcentaje con un valor de 9.3627 % y la estación ubicada en la Desembocadura Río Cuervo registrando un valor de 4.1 %.

Las restantes estaciones registraron valores de materia orgánica entre 1 a 3.6 %.

Tabla 9. Resultados análisis de materia orgánica en sedimentos

ESTACIÓN	IDENTIFICACIÓN MUESTRA	% MATERIA ORGÁNICA	PROMEDIO %
Isla Huichas	41041	1.4541	1.431
	41041d	1.4080	
Isla Helena	41042	2.1747	2.188
	41042d	2.2013	
Cinco Hermanas	41043	2.0353	2.025
	41043d	2.0152	
Desembocadura Río Cuervo	41044	4.0466	4.185
	41044d	4.3239	
Desembocadura Río Pescado	41045	2.0961	2.035
	41045d	1.9745	
Bahía Puerto Camello	41046	3.5878	3.642
	41046d	3.6961	
Desembocadura Río Cuervo	41047	0.5351	0.532
	41047d	0.5305	
Desembocadura Río Aysén	41048	2.2134	2.170
	41048d	2.1273	
Caleta Bluff	41049	0.9954	0.950
	41049 d	0.9045	
Estación COPEC Factoría	41050	9.7907	9.362
	41050d	8.9347	
Bahía Chacabuco	41051	2.4632	2.445
	41051d	2.4284	
Puerto Chacabuco	41052	2.0460	2.104
	41052d	2.1620	
Blanco 1			0.0001
Blanco 2			

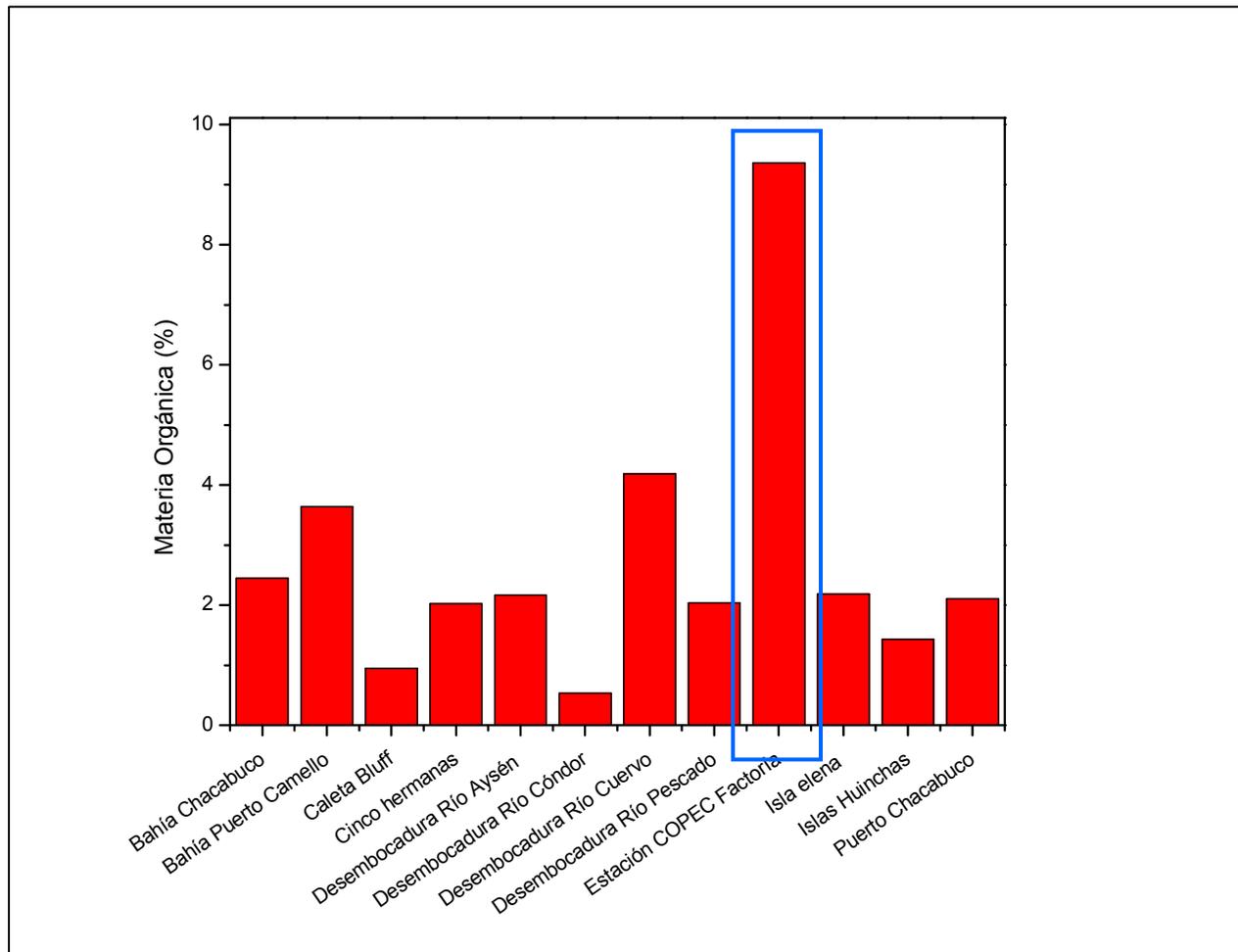


Figura 13. Contenido de materia orgánica (%) en sedimentos del Fiordo de Aysén.



b. Contenido de Metales

La matriz sedimentaria, en términos de su concentración de metales traza, está básicamente compuesta de fracciones de detritus proveniente del basamento rocoso en conjunto con los compuestos metálicos que convergen a través de vías naturales (advección, transporte fluvial y por aire) y /o procesos antropogénicos (contaminación) (Ahumada *et al.*, 2007).

La composición química de los sedimentos, está directamente influenciada por procesos y equilibrios que ocurren en la columna de agua y por medio de los procesos de sedimentación y estratificación (Stumm y Morgan, 1981)

La estructura geológica del Fiordo de Aysén está caracterizada por un basamento rocoso formado principalmente por erosión glacial, depósitos aluviales y coluviales y en menor grado por sedimentos fluvioglaciales, rocas plutónicas intrusivas, lavas basálticas y rocas ultrabásicas (SERNAGEOMIN, 2002).

Los resultados para el análisis de metales en sedimentos del Fiordo Aysén, se presentan en tabla 10, y las gráficas por estación de muestreo y por metal en las figuras 14 a la 21.

Se presentan los resultados de contenido de metales en sedimentos del fiordo Aysén para dos metodologías analíticas (EEA-ICP y FRX) (Figura 22 y 23).

De acuerdo a los resultados obtenidos mediante el análisis de contenido de metales totales por medio del método analítico ICP, se puede indicar que las mayores concentraciones para los metales: Cobre (56.33 ug/g) y Plomo (31.41 ug/g) se registraron en la estación Puerto Chacabuco y con valores importantes pero en menor magnitud el Zinc (283.26 ug/g).

Para la estación bahía Chacabuco, se registran altos valores para los metales Aluminio (11379.42 ug/g) y Bario (69.16 ug/g).



INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

La estación COPEC Factoría, se presenta como una de las estaciones con un mayor número de metales presente en altos contenidos: Cadmio (3.51 ug/g), Zinc (302.38 ug/g), Plomo (28.58 ug/g), Bario (48.37 ug/g), Molibdeno (8.32 ug/g) y Boro (83.71 ug/g). Al igual que la estación ubicada en la desembocadura río Cóndor presenta altos niveles en metales como Cromo (61.97 ug/g), Níquel (157.10 ug/g), Vanadio (208.55 ug/g), Cobalto (25.76 ug/g),

Por otra parte las estaciones Isla Elena, Cinco hermanas, Bahía Punta Camello, Isla Huichas y Caleta Bluff, son las estaciones que no presentan altos valores para los metales estudiados, siendo isla Elena e Isla Huichas estaciones ubicadas fuera del fiordo, y alejadas de actividades antrópicas de importancia.

De acuerdo a los resultados obtenidos del contenido de metales totales a partir del análisis de sedimentos marinos por medio de dos técnicas analíticas (EEA – ICP y FRX), se puede indicar que para todos los metales medidos el método FRX midió cantidades mayores de metales totales en comparación al método EEA – ICP. Llegándose a alcanzar hasta 5 veces el valor por medio del método FRX para el metal Zinc en la muestra N° 41042; 10 veces el valor para el metal cobre en la muestra N° 41042; 4 veces el valor para el metal Cobre en la muestra N°41046; 5 veces el valor para el metal Cobre en la muestra N°41047 y 17 veces el valor para el metal Cobre en la muestra N° 41049 (Tabla 11).



INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

Tabla 10. Contenido de metales en sedimentos marinos del Fiordo de Aysén (ug/g)

ESTACIÓN	N° muestra	Cd	Zn	Cr	As	Cu	Ni	Pb	Al	Se
Isla Huichas	41041	1.15	34.68	13.52	< LD	8.51	103.1	0.40	5388.59	< LD
Isla Elena	41042	0.53	6.99	< LD	< LD	3.91	12.50	0.59	79.54	< LD
Cinco Hermanas	41043	1.19	41.82	31.37	< LD	12.85	75.41	2.59	3405.89	< LD
Desembocadura Río Cuervo	41044	2.01	44.84	36.26	< LD	19.77	82.72	2.87	12810.5	< LD
Desembocadura Río Pescado	41045	1.24	45.00	71.83	< LD	46.45	113.0	2.11	3060.92	< LD
Bahía Punta Camello	41046	1.88	49.62	33.29	< LD	8.84	60.97	4.59	6662.79	< LD
Desembocadura Río Cóndor	41047	2.45	45.27	61.97	< LD	7.61	157.1	4.91	9574.12	< LD
Desembocadura Río Aysén	41048	2.26	60.87	12.46	< LD	11.34	61.91	10.67	7297.23	< LD
Caleta Bluff	41049	1.89	43.88	29.72	< LD	2.55	30.85	7.15	6262.28	< LD
Estación COPEC factoría	41050	3.51	302.38	34.69	< LD	34.28	44.17	28.58	5258.97	< LD
Bahía Chacabuco	41051	1.94	57.05	11.60	< LD	13.84	53.97	5.31	11379.4	< LD
Puerto Chacabuco	41052	1.82	283.26	3.43	< LD	56.33	45.84	31.41	3414.90	< LD



INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

Continuación Tabla 10. Contenido de metales en sedimentos marinos del Fiordo de Aysén

ESTACIÓN	N° muestra	Hg	Mn	Ag	V	Ba	Co	Mo	Be	B	Fe
Isla Huichas	41041	0.0039	387.76	<LD	67.54	19.68	10.60	1.49	<LD	13.99	5126.75
Isla Elena	41042	0.0056	245.37	<LD	16.58	2.07	2.85	0.63	<LD	4.02	1703.84
Cinco Hermanas	41043	0.0020	405.73	<LD	84.53	6.89	18.55	0.93	<LD	23.36	11123.3
Desembocadura Río Cuervo	41044	0.0041	369.66	<LD	132	24.33	19.31	<LD	<LD	62.30	28502.82
Desembocadura Río Pescado	41045	0.0039	844.25	<LD	119.8	43.28	26.10	1.04	<LD	23.80	11701.6
Bahía Punta Camello	41046	0.0062	624.05	<LD	110.85	23.94	20.80	0.70	<LD	49.94	23979.42
Desembocadura Río Cóndor	41047	0.0016	718.47	<LD	208.55	21.85	25.76	<LD	<LD	65.49	36020.81
Desembocadura Río Aysén	41048	0.0058	699.76	<LD	100.16	37.16	15.99	<LD	<LD	55.23	29356.68
Caleta Bluff	41049	0.0021	644.61	<LD	111.40	20.59	18.54	<LD	<LD	39.34	21831.58
Estación COPEC factoría	41050	0.040	370.01	<LD	116.91	48.37	17.92	8.32	<LD	83.71	25854.84
Bahía Chacabuco	41051	0.0074	741.65	<LD	115.94	69.16	18.47	1.22	<LD	47.11	16969.9
Puerto Chacabuco	41052	0.0063	402.79	<LD	54.24	17.68	11.09	2.21	<LD	21.34	6741.87

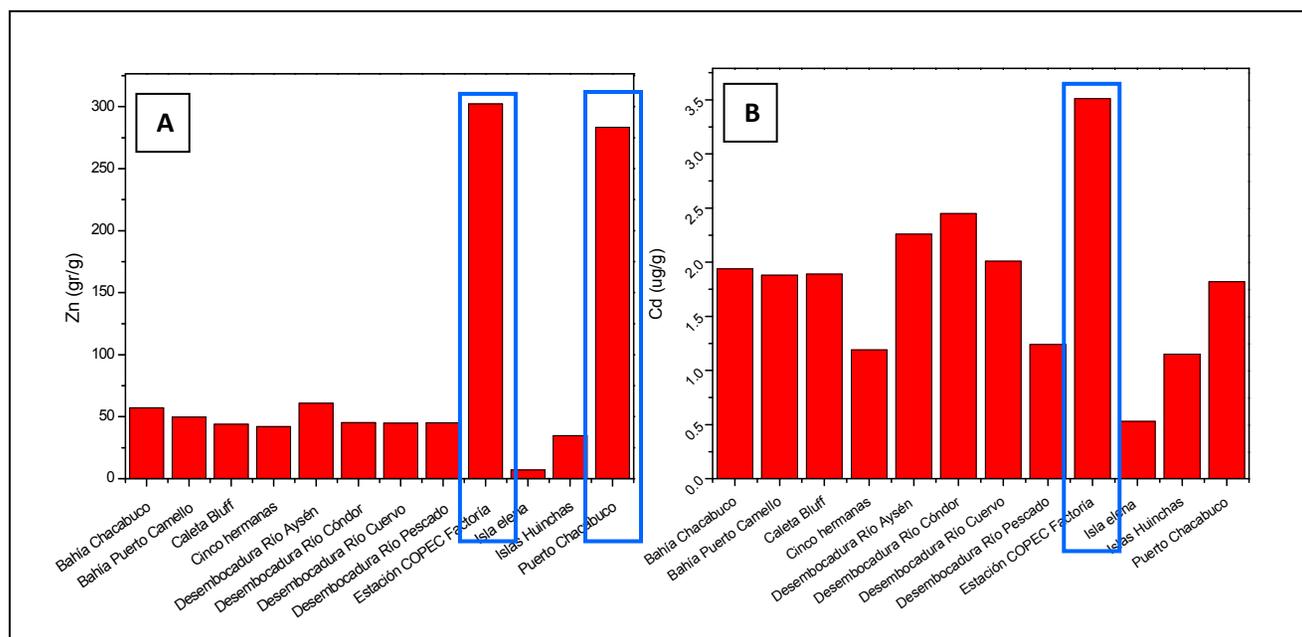


Figura 14. Contenido de metales en sedimentos del Fiordo Aysén. A. Zinc, B. Cadmio.

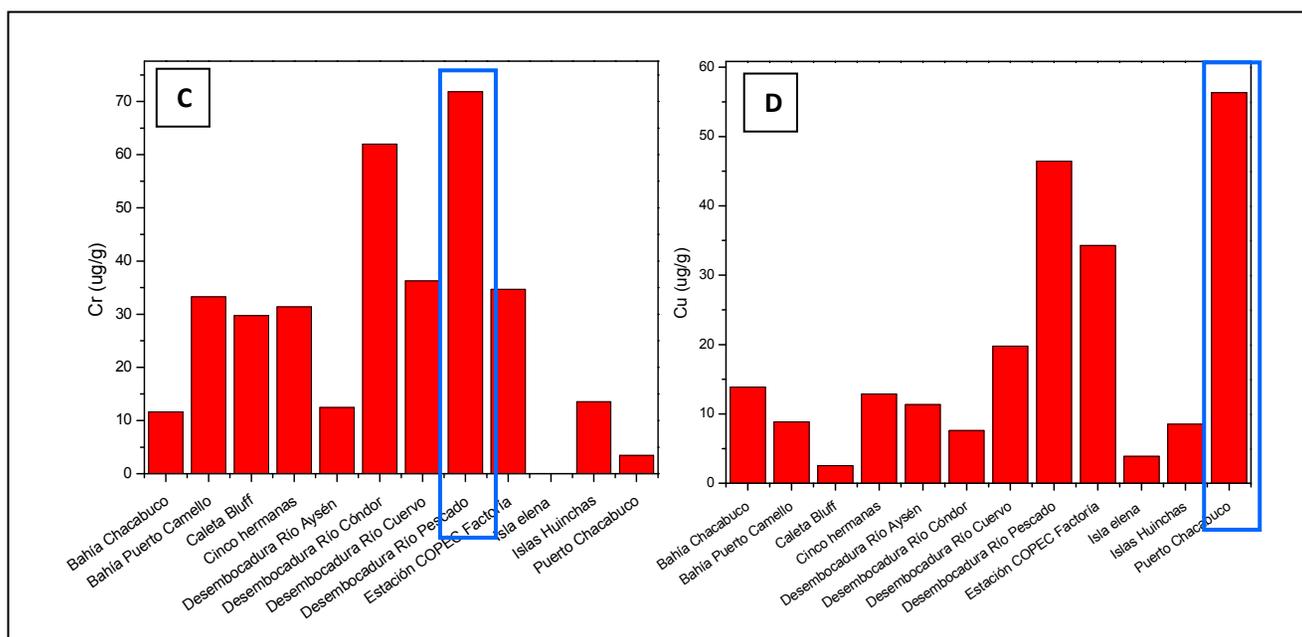


Figura 15. Contenido de metales en sedimentos del Fiordo Aysén. C. Cromo, D. Cobre.

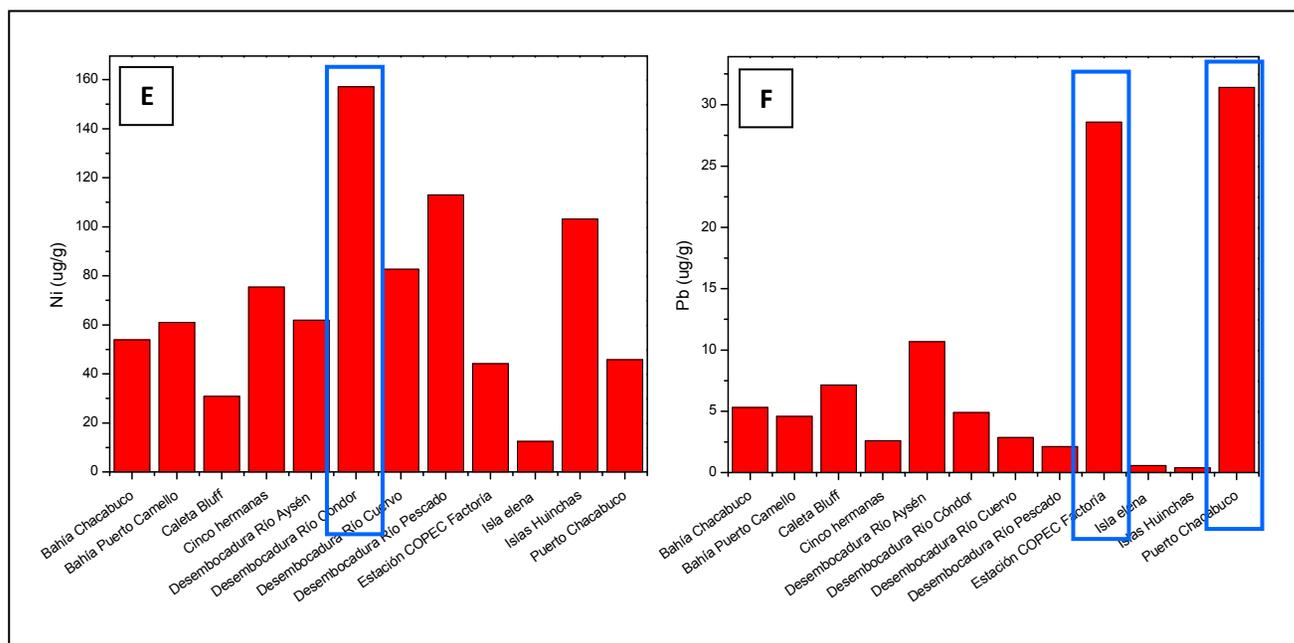


Figura 16. Contenido de metales en sedimentos del Fiordo Aysén. E. Níquel, F. Pomo.

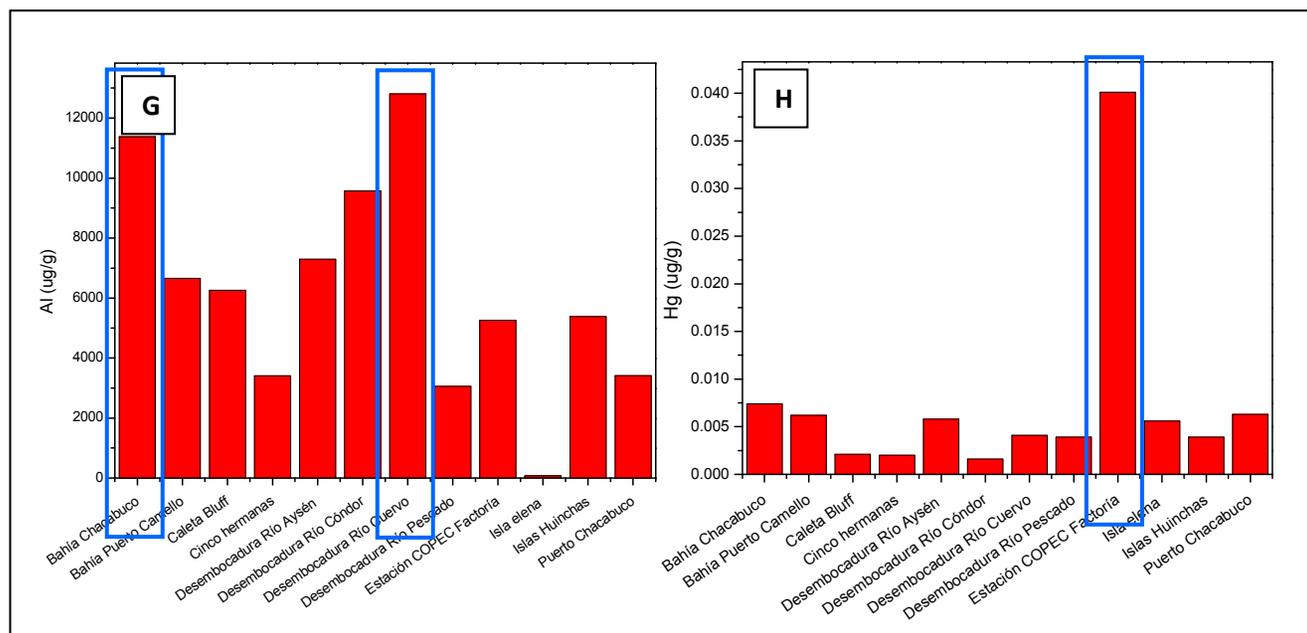


Figura 17. Contenido de metales en sedimentos del Fiordo Aysén. G. Aluminio, H. Mercurio.

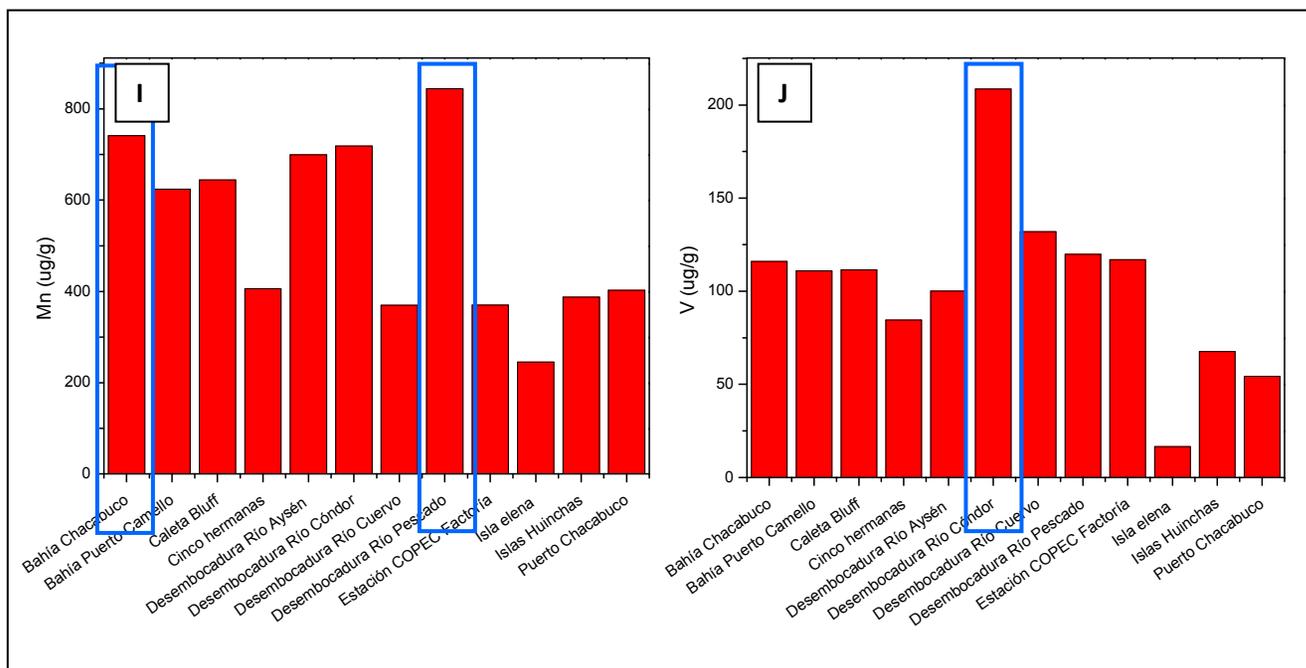


Figura 18. Contenido de metales en sedimentos marinos del Fiordo Aysén. I. Manganeso, J.

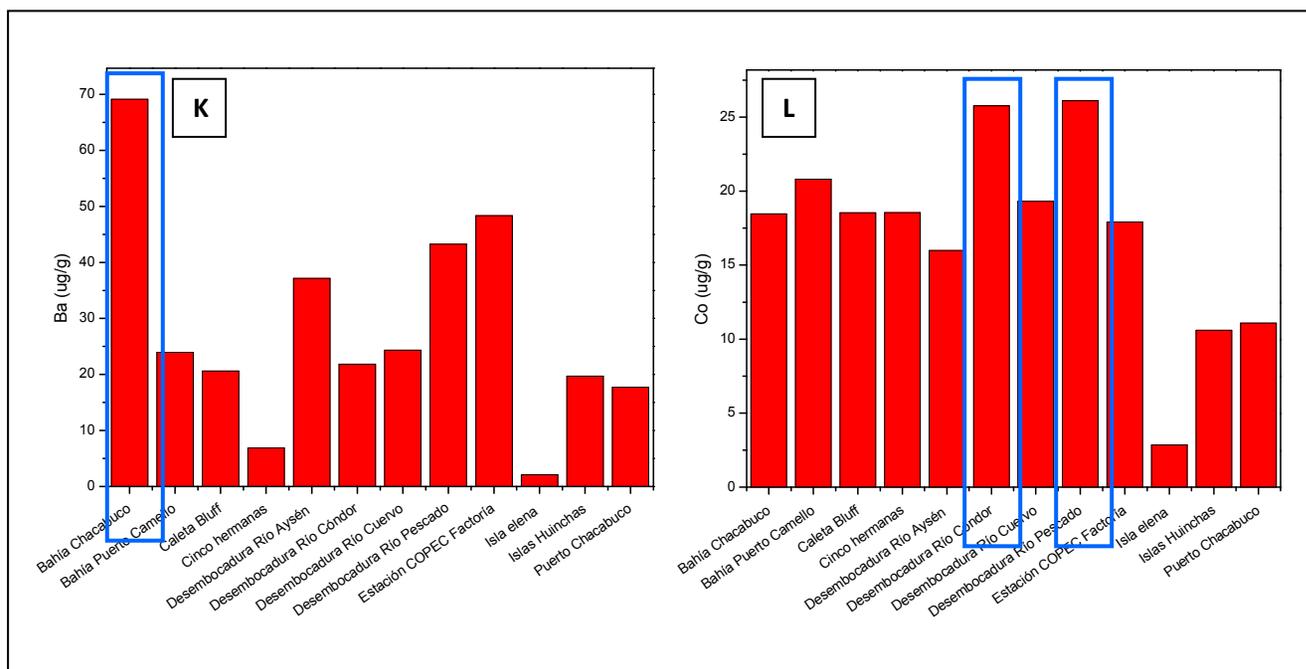


Figura 19. Contenido de metales en sedimentos marinos del Fiordo Aysén. K. Bario, L. Cobalto

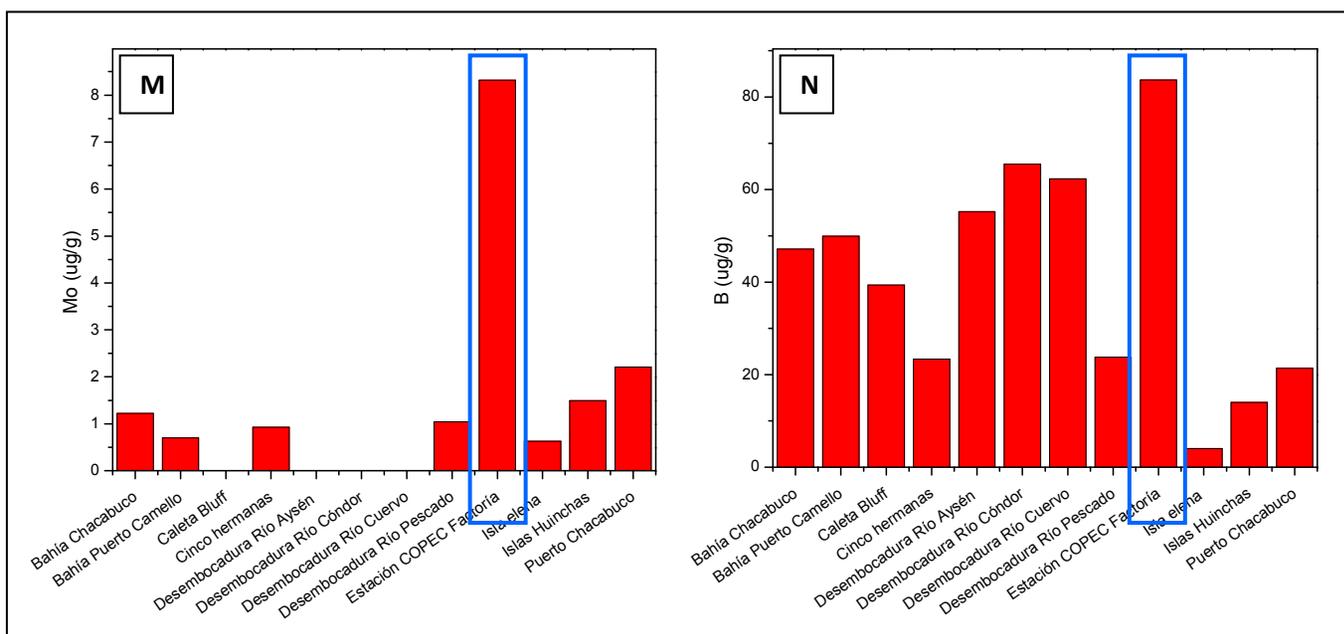


Figura 20. Contenido de metales en sedimentos del Fiordo Aysén. M. Molibdeno, N. Boro.

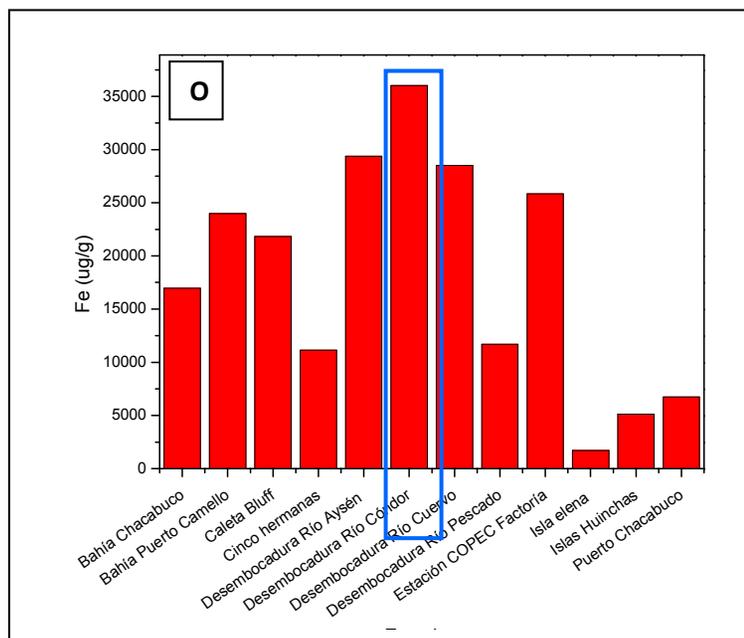


Figura 21. Contenido de metales en sedimentos del Fiordo Aysén. O. Hierro



INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

Tabla 11. Análisis de metales por medio de dos métodos (Espectrometría de fluorescencia de rayos X (FRX) y Espectrofotometría de emisión atómica con acoplamiento inductivo (EEA – ICP)



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°2

EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

Metal	Método	Isla Huichas	Isla Elena	Cinco hermanas	Desemboca dura Río Cuervo	Desemboca dura Río Pescado	Bahía Punta camello	Desemboca dura Río Condor	Desemboca dura Río Aisen	Caleta Bluff	Estación COPEC	Bahía Chacabuco	Puerto Chacabuco
Cd	FRX	<27	<27	<27	<27	<27	<27	<27	<27	<27	<27	<27	<27
	EEA	1.15	0.53	1.19	2.01	1.24	1.88	2.45	2.26	1.89	3.51	1.94	1.82
Zn	FRX	65.8	28.80	66	76.6	79	76.2	67.8	100.6	67.4	314.6	82.8	348.4
	EEA	34.68	6.99	41.82	44.84	45	49.62	45.27	60.87	43.88	302.38	57.05	283.26
Cr	FRX	<45	<45	<45	<45	235.4	<45	98	<45	<45	<45	<45	<45
	EEA	23.52	<LD	31.37	36.26	71.83	33.29	61.97	12.46	29.72	34.69	11.6	3.43
Cu	FRX	40.20	31.40	53.60	52.20	74	35.60	37	44	34.4	70	48.8	87.80
	EEA	8.51	3.91	12.85	19.77	46.45	8.84	7.61	11.34	2.55	34.28	13.84	56.33
Ni	FRX	81.20	<12	56.80	82.80	116.6	40	85.20	<12	<12	<12	<12	53.20
	EEA	103.15	12.5	75.41	82.72	113	60.97	157.10	61.91	30.85	44.17	53.97	45.84
Pb	FRX	<11	<11	<11	<11	<11	<11	<11	<11	<11	36	<11	40.25
	EEA	0.40	0.59	2.59	2.87	2.11	4.59	4.91	10.67	7.15	28.58	5.31	31.41
Al	FRX	5388.59	79.54	3405.8	12810.5	3060.9	6662.79	9574.12	7297.2	6262.2	5258.9	11379.4	3414.9
	EEA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mn	FRX	967.8	857.4	1075.8	777.4	1080.0	906.4	1042.2	931.4	896.8	702.4	847.6	913.8



INFORME TÉCNICO N°2
 EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
 DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
 ESTUDIO: FIORDO AISÉN

Continuación **Tabla 11**

	EEA	387.76	245.37	405.73	369.66	844.25	624.05	718.47	699.76	644.61	370.01	741.65	402.79
Ag	FRX	<4000	<4000	<4000	<4000	<4000	<4000	<4000	<4000	<4000	<4000	<4000	<4000
	EEA	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Co	FRX	<22	<22	<22	<22		<22		<22	<22	<22	<22	<22
	EEA	10.60	2.85	18.55	19.31	26.10	20.80	25.76	15.99	18.54	17.92	18.47	11.09
Mo	FRX	1.49	0.63	0.93	<LD	1.04	0.70	<LD	<LD	<LD	8.32	1.22	2.21
	EEA	<7	<7	<7	<7	<7	<7	<7	<7	<7	<7	<7	<7
Fe	FRX	25980	7816	40980	42360	52060	47160	50200	42420	44060	40780	40340	34500
	EEA	5126.75	1703.84	11129.3	28502.8	11701.6	23979.42	36020.8	29356.6	21831.5	25854.8	16969.9	6747.8

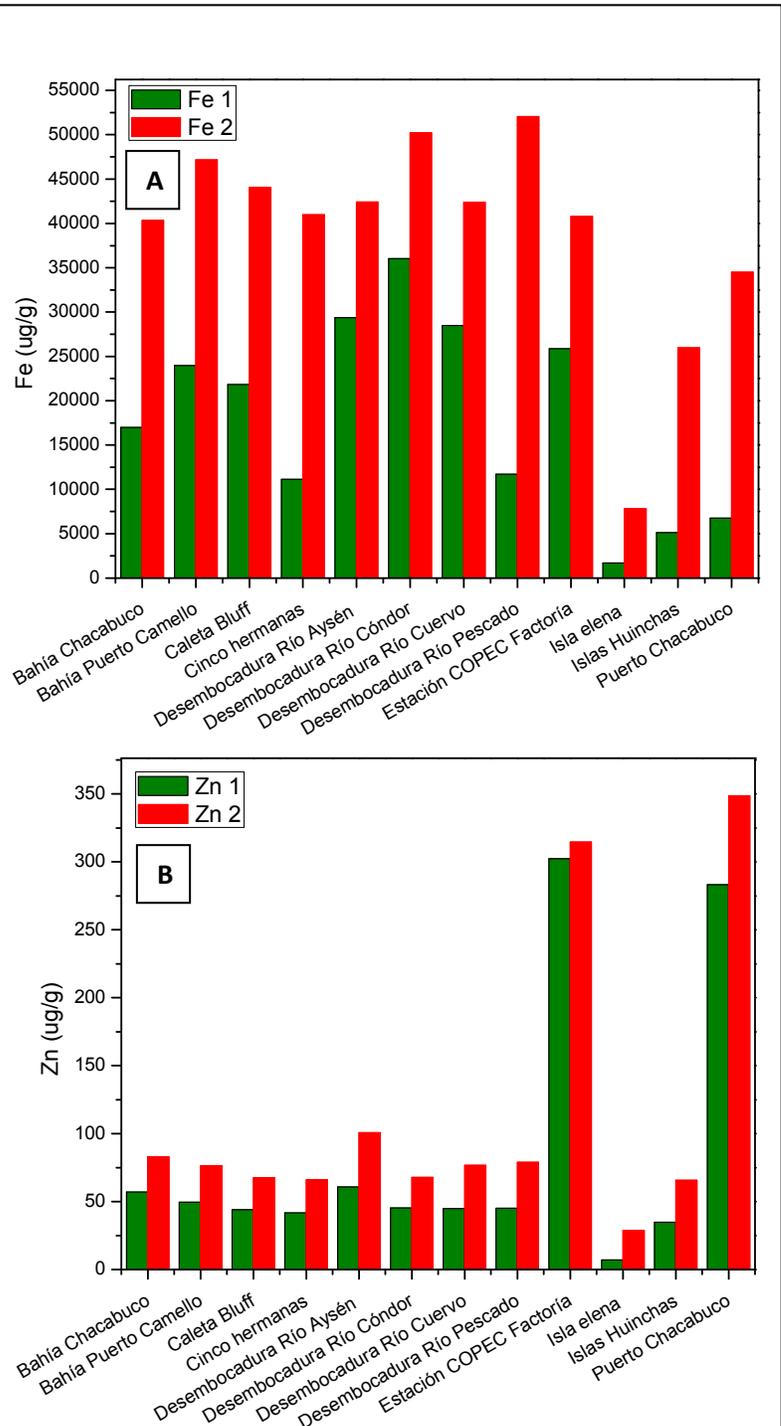
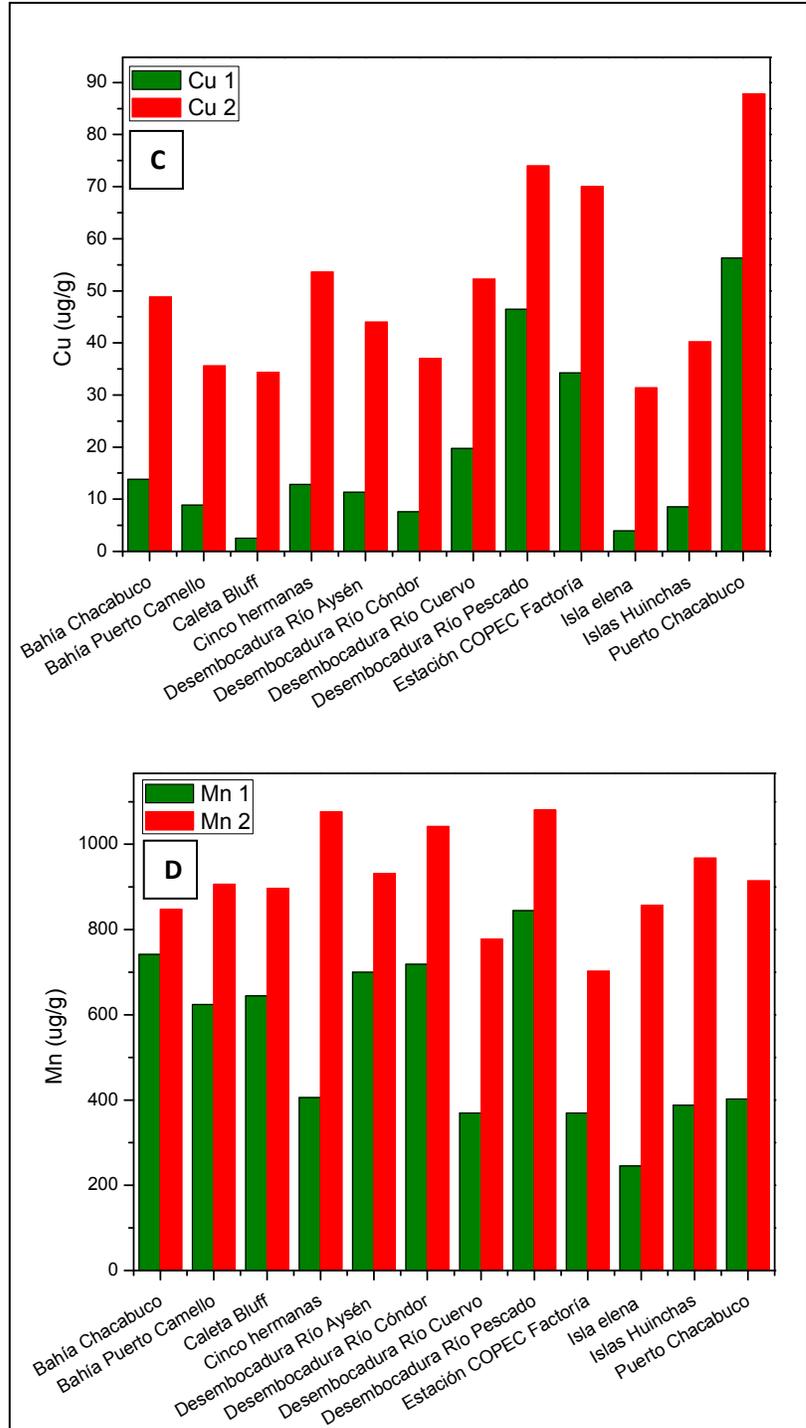


Figura 22. Contenido de metales en sedimentos del Fiordo de Aysén, por dos métodos de análisis. (Fe 1 y Zn 1; EEA - ICP; Fe 2 y Zn 2 por FRX).

Figura 23. Contenido de metales en sedimentos del Fiordo de Aysén, por dos métodos de análisis (Cu 1 y Mn 1, EEA - ICP; Cu 2 y Mn 2 por FRX).





a. Organismos marinos

Durante el proceso de muestreo de sedimentos marinos en el Fiordo Aisén, se recolectaron organismos marinos presentes en las estaciones de muestreo, dentro de éstos se identificaron visualmente juveniles de bivalvos (choritos, almejas), crustáceos (jaibas), poliquetos y Equinodermos (estrella de mar) (Figuras 11 y 12). Los cuales fueron recolectados entre los 3 y 21 metros de profundidad.



7. CONCLUSIONES Y DISCUSIÓN

Los sistemas litorales semicerrados de la región austral por sus características dinámicas y la alta pluviosidad, poseen características estuarinas.

Presentan una fuerte dilución de las aguas costeras por los aportes fluviales y escorrentía superficial, y zonas de intercambio de agua de mar con zonas costeras adyacentes (Pickard, 1971). Por otra parte, la erosión glaciaria activa produce un importante arrastre de sedimentos finos (arcillas), ingreso de materia orgánica proveniente del bosque templado frío y pequeñas concentraciones de metales traza provenientes de la erosión de las rocas continentales.

El ingreso de metales al mar se establece vía aguas fluviales, atmósfera o transporte advectivo de las aguas y alcanza un equilibrio entre los procesos de sedimentación, incorporación a los organismos y advección/difusión. La dinámica de los metales en las aguas, en términos de advección/difusión y transferencia de los metales disueltos o particulados a diferentes matrices es rápida, lo que hace difícil pesquisar problemas de contaminación en el agua y sólo es posible apreciar los cambios en pequeñas escalas espaciales con algún tipo de gradiente los sistemas semicerrados o de circulación restringida son áreas con un alto riesgo de contaminación (Ahumada, *et al.*, 2006).

La secuencia de abundancia para los metales estudiados en la zona corresponde a:

Fe > Al > Mn > V > Zn > Ni > B > Cr > Ba > Cu > Co > Pb > Cd > Mo > Hg

De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede señalar cierta relación entre la presencia de actividades antrópicas y el contenido de algunos metales.



INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

Puerto Chacabuco ha sido utilizado como puerto de embarque para concentrados de Zinc desde 1960. Entre los años 1990 y 2001, 344.894 toneladas de concentrado de zinc y 8.121 de Plomo fueron embarcadas desde este puerto. (Ahumada, 2007). De acuerdo a los resultados, es esta estación la que presenta los mayores contenidos de Zinc y Plomo en sus sedimentos.

La localización de un puerto puede producir cambios en los patrones de las corrientes, mareas y en las formaciones litorales, dada la alteración en la altura y período de las olas. Los cambios en las formaciones costeras se traducen en erosión costera, drenaje, deposición de sedimentos, cambio en la topografía del fondo o incluso pérdida del fondo.

La actividad de un puerto puede afectar los hábitats costero y marino, y por consecuencia afectar a su flora y fauna, incluyendo organismos bentónicos y planctónicos. Estos impactos se deben a cambios de calidad del agua, en la hidrología, remoción y contaminación de sedimentos, dragado y vertido de material, contaminación de sedimentos por metales pesados y aceites, entre otros.

La estación correspondiente a COPEC Factoría, registra los valores más altos para el contenido de metales en sedimentos tales como el Plomo, metal asociado a la presencia de combustibles.

Para relacionar el estado o calidad ambiental de los sedimentos marinos del Fiordo Aisén, se comparó como ejercicio los valores de metales obtenidos en este estudio con valores de metales obtenidos en estudios previos en la zona (CIMAR FORDOS 1 y 7). Además se presentan criterio de calidad ambiental para sedimentos establecidos por agencias ambientales internacionales y por estudios en distintas localidades.

De acuerdo al criterio establecido por la US EPA (Tabla 12), se puede indicar que según los valores indicados en tabla para los metales señalados, existiría contaminación moderada por Cr, en las estaciones correspondientes a cinco hermanas, Desembocadura Río Cóndor,

Desembocadura Río Pescado, Bahía Punta Camello, Desembocadura Río Cuervo, Caleta Bluff y Estación COPEC Factoría (todas estas estaciones con niveles entre 25 – 75 ug/g)

Del mismo modo según el criterio US EPA, existiría contaminación moderada por la presencia de Cobre (25 – 50 ug/g) en las estaciones Desembocadura Río Pescado, Estación COPEC Factoría y Puerto Chacabuco. Y contaminación alta por Zinc (> 200 ug/g) en las estaciones COPEC Factoría y Puerto Chacabuco. Estos valores están asociados como ya se mencionó a las faenas de embarque de concentrado.

Tabla 12. Criterio para concentración de metales en sedimentos (ug/g) establecidos por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (USEPA).

Metal	No contaminado	Contaminación Moderada	Contaminación alta
Hg	< 1	-	> 1
Cd	-	-	> 6
Cr	< 25	25 – 75	> 75
Cu	<25	25 - 50	>50
Pb	<40	40 - 50	>60
Zn	<90	90 - 200	>200

Fuente: USEPA, 1991

Por otra parte se realiza una comparación del contenido de metales, con valores de los mismos en la zona de estudio obtenidos desde el programa Cimar Fiordos (1 y 7) y otros valores de criterio de sedimentos obtenidos desde otros estudios (Tabla 13 y 14).

En términos generales los valores de metales se encuentran dentro de lo señalado en los estudios Cimar Fiordos, sólo muestran valores de mayor magnitud los metales, Cd, Co y Ni.

Para criterios de sedimentos contaminados los metales Co y Cd, se encontrarían por sobre el valor límite establecido.

Tabla 13. Valores de concentración de metales traza en sedimentos y rocas de diferentes localidades (ug/g).

Metales	Rocas ¹	Granito ²	Zona Sur ³	Greenland ⁴	Sedimentos no contaminados ⁵
Ba	-	445	649.7	549.20	-
Cd	0.2	-	0.30	0.11±0.05	0.01 – 0.2
Co	13	50	13.20	-	6 – 10
Cr	71	170	60.40	118±45	30
Cu	32	90	21.9	46±32	5 – 25
Ni	49	130	29.7	59±29	10 – 20
Pb	16	-	22.6	19±70	5 – 25
V	97	-	146.4	162±65	-
Zn	127	-	112.4	89±20	20 - 100

¹Valores promedio del contenido de metales en rocas como referencia por Chester, 1996

²Valores promedio del contenido de metales en suelos, Libes, 1992

³Valores promedio para sedimentos de los canales y fiordos australes Ahumada, 2006.

⁴Sedimentos superficiales (0 – 1 cm) de East Greenland, Loring y Asmund, 1996

⁵Sedimentos no contaminados según Bryan y Langton, 1992, En: Prego y Cobelo – García, 2003.

Fuente: Ahumada, 2006

Tabla 14. Concentración de metales (ug/g), en sedimentos del Seno de Aisén.

Localidad	Ba	Cd	Co	Cr	Cu	Ni	Pb	V	Zn
Seno Aisén	394	0.45	15	30	28	14	32	159	128

Fuente: Ahumada, 1998; En: Ahumada *et al.*, 2002

Referente a la comparación entre las técnicas analíticas para metales totales en sedimentos (EEA -ICP y FRX), se puede señalar que la metodología FRX tuvo una mayor efectividad en la medición del contenido de metales totales, alcanzando diferencias por sobre el 100%. Aún



cuando los límites de detección no permiten (para algunos metales) detectarlos en cantidades pequeñas.

Los contenidos de materia orgánica para los sedimentos del Fiordo Aisén, indican valores homogéneos para casi la totalidad de las estaciones muestreadas, sólo la Estación COPEC Factoría registra valores de materia orgánica que pueden ser indicados como resultantes de actividades antropogénicas en esta zona.

Para la zona se presentan valores de materia orgánica para la zona de estudio, obtenidos del programa Cimar Fiordos 1 (Tabla 15).

Tabla 15. Contenido de materia orgánica, Fiordo Aisén (Cimar Fiordos 1, 1995)

Estación	Estrato	Materia orgánica (%)
Bahía Chacabuco	1	2.19
Desembocadura Río Cóndor	1	27.87
Desembocadura Río Cuervo	1	1
Seno Aisén	1	6.75
Seno Aisén (2)	1	7.21

Fuente: http://www.shoa.cl/n_cendhoc/productos/cimar-1/index.html

Los principales aportes de materia orgánica en el Fiordo Aisén corresponden a los aportes provenientes del fitoplancton, aporte fluvial (suelos – bosques), material desaguado por las ciudades y los centros de cultivo. Siendo los aportes de componentes silvestres mayores a los antropogénicos en términos generales del Fiordo.



8. BIBLIOGRAFÍA

- **AHUMADA, R.**, Rudolph, A. y Contreras, S. 2002. Contenido de metales (Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, Sr, V y Zn) en los sedimentos marinos de la región patagónica (52°-56° S), Chile. *Cienc. Technol. Mar.*, 25 (2): 77-86.
- **AHUMADA, R.** 2006. Metales menores y trazas de los sedimentos superficiales de canales y fiordos australes. En: SILVA, N. y Palma, S. 2006. Avances en el conocimiento oceanográfico de las aguas interiores chilenas, Puerto Montt a Cabo de Hornos. Comité Oceanográfico Nacional, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Valparaíso, 77-81 pp.
- **AHUMADA, R.**, González, E., Medina, V., y Rudolph, A. 2007. Analysis of mayor zinc sources in marine sediments of the estuarine zone in Aysén Fjords, Chile. *Invest. Mar. Valparaíso*, 35 (2): 5 – 14.
- **CAVANAGH, N.**, Nordin, R., Pommen, L y Swain, L. 1998. Guidelines for Designing and Implementing a Water Quality Monitoring Program in British Columbia. Ministry of Environment, Lands and Parks. Aquatic Inventory Task Force of the Resource Inventory Commision, Forest Renewal British Columbia. [\[http://www.ilmb.gov.bc.ca/risc/pubs/aquatic/design/design.htm#\]](http://www.ilmb.gov.bc.ca/risc/pubs/aquatic/design/design.htm#)
- **CHESTER, R.** 1996. *Marine Geochemistry*. Springer Verlag. 552 pp.
- **DIRECCIÓN GENERAL DE AGUAS.** 2004. Diagnóstico y clasificación de los cursos y cuerpos de agua según objetivos de calidad. Cuenca del río Aysén. Gobierno de Chile Cade-Idepe consultores. 130 pp.



INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

- **GUZMÁN, D.** y Silva, N.2002. Caracterización física y química y masas de agua en los canales australes de Chile entre boca del Guafo y golfo Elefantes (Crucero Cimar-Fiordo 4). Cienc. Tecnol. Mar 25: 45-76.
- **GUZMÁN, D.** 2004. Caracterización hidrográfica, oceanográfica y balance de nitrógeno y fósforo del fiordo Aysén. Tesis de magíster en oceanografía. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso y Universidad de Valparaíso. Valparaíso, Chile. 74 pp.
- **LIBES, S.**1992. An introduction to Marine Biochemistry. John Wiley & Sons, New York, 734 pp.
- **LORING, D** y Asmund, G. 1996. Geochemical factors controlling accumulation of mayor and trace elements in Greenland coastal and fjord sediments. Environ. Geol., 28 (1); 2 – 10.
- **OLIVARES, J. P.** 2002. Clasificación de fiordos y canales del sur de Chile (43,5° - 46,5° Sur) de acuerdo a la estratificación de la columna de agua. Trabajo de titulación para optar al Título de especialidad de Ingeniero Naval Hidrográfico y Oceanógrafo. Servicio Hidrográfico y Oceanográfico de Chile (SHOA). 77 pp.
- **ORELLANA, D.** 2006. Modelo conceptual de los aportes de materia orgánica en el Fiordo Aysén bajo un enfoque Ecosistémico. Memoria para optar al Título Profesional de Ingeniero en Recursos Naturales Renovables. Universidad de Chile. 56 pp.
- **PALMA, S.** y Silva, N. 2004. Distribution of siphonophores, chaetognaths, euphausiids and oceanographic conditions in the fjords and channels of southern Chile Deep-Sea Research II 51: 513-535.



INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

- **PREGO, R** y Cobelo – García. 2003. Twentieth century overview of heavy metals in Galicia Rias (NW Iberian Peninsula). *Environ. Pollut.*, 121; 425 – 452.
- **RUDOLPH, A.**, Medina, P., Ahumada, R. y Novoa, V. 2011. Calidad ecotoxicológica de los sedimentos en fiordos del Sur de Chile. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*. 46, (1): 79 – 84.
- **SERVICIO NACIONAL DE GEOLOGÍA Y MINERÍA (SERNAGEOMIN)**. 2002. Mapa Geológico de Chile, N° 5. Servicio Nacional de Geología y Minería. Escala 1: 1000000.
- **SIEVERS, H.** y Prado, R. 1994. Contraste de las características oceanográficas del Seno Aysén, Chile, entre invierno y verano (Lat. 45° 20' S). *Revista de Biología Marina*, 29(2): 167-209.
- **SOTO, E.** y Paterson, G. 2010. Poliquetos bentónicos intermareales y sublitorales de la Región de Aisén, Chile. *Anales Instituto Patagonia (Chile)*. 38 (2), 69 – 80.
- **STUMM, W.** y Morgan, J. 1981. *Aquatic chemistry: an introduction emphasizing chemical equilibrium in natural waters*. A Wiley Interscience Publication, New York, 780 pp.
- **USEPA**. 1991. Criteria for sediment concentration of metals. En: heavy metals contamination of sediments in the upper connecting channels of great lakes. *Hidrobiología*, 219; 307 – 315.
- **VIEIRA, R.** 2002. Morfogénesis y dinámica de las vertientes Submarinas en la costa de Fiordos de Norpatagonia, Chile. Tesis para optar al grado de Magíster en Geografía. Facultad de Arquitectura y Urbanismo. Universidad de Chile.



INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

- **ZHEN-GANG, Ji.** 2008. Hydrodynamics and water quality: modeling rivers, lakes, and estuaries. Wiley Interscience. 702 pp.



INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

9. ANEXO



INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

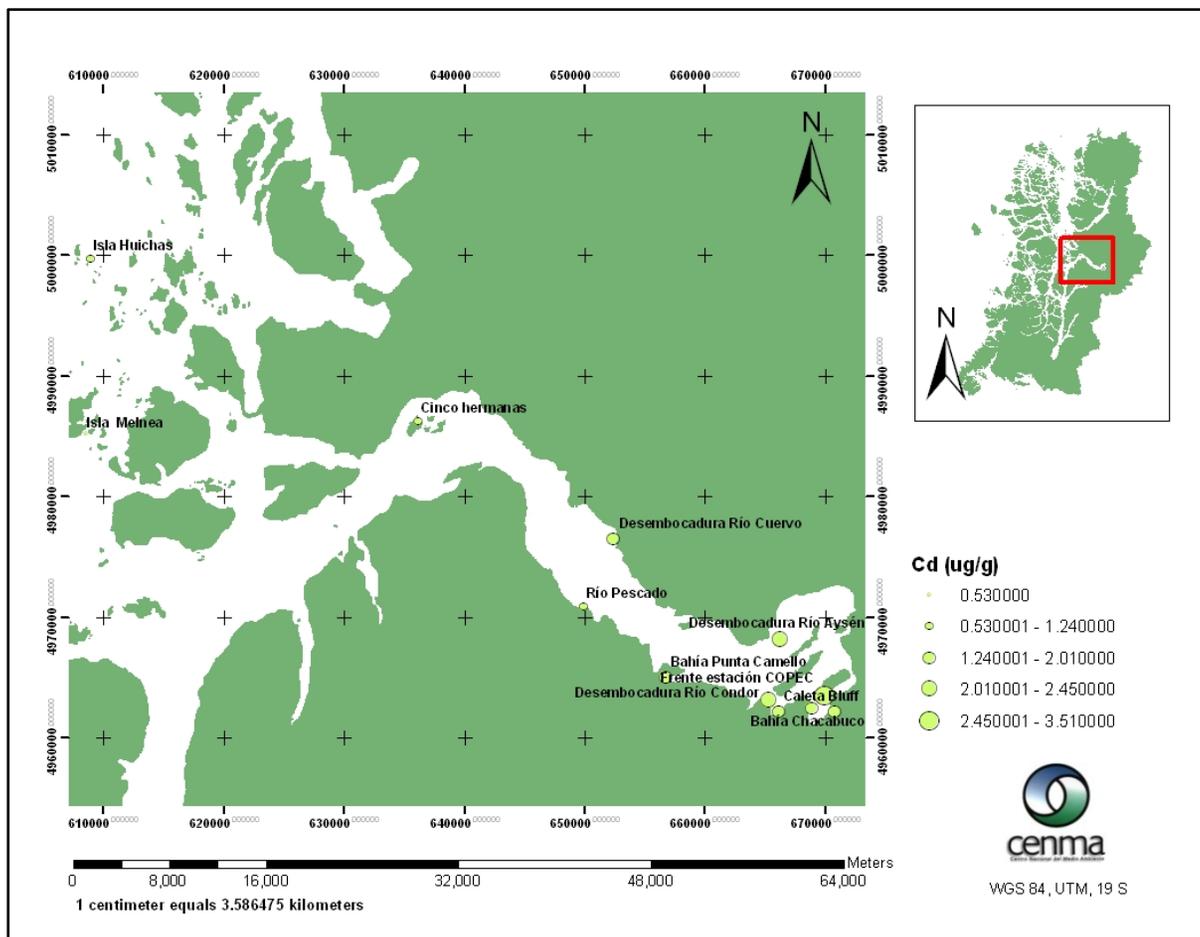
ANEXO 1. Concentración de Cadmio (ug/g), en sedimentos marinos del Fiordo Aysén



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°2

EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE ESTUDIO: FIORDO AISÉN





INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

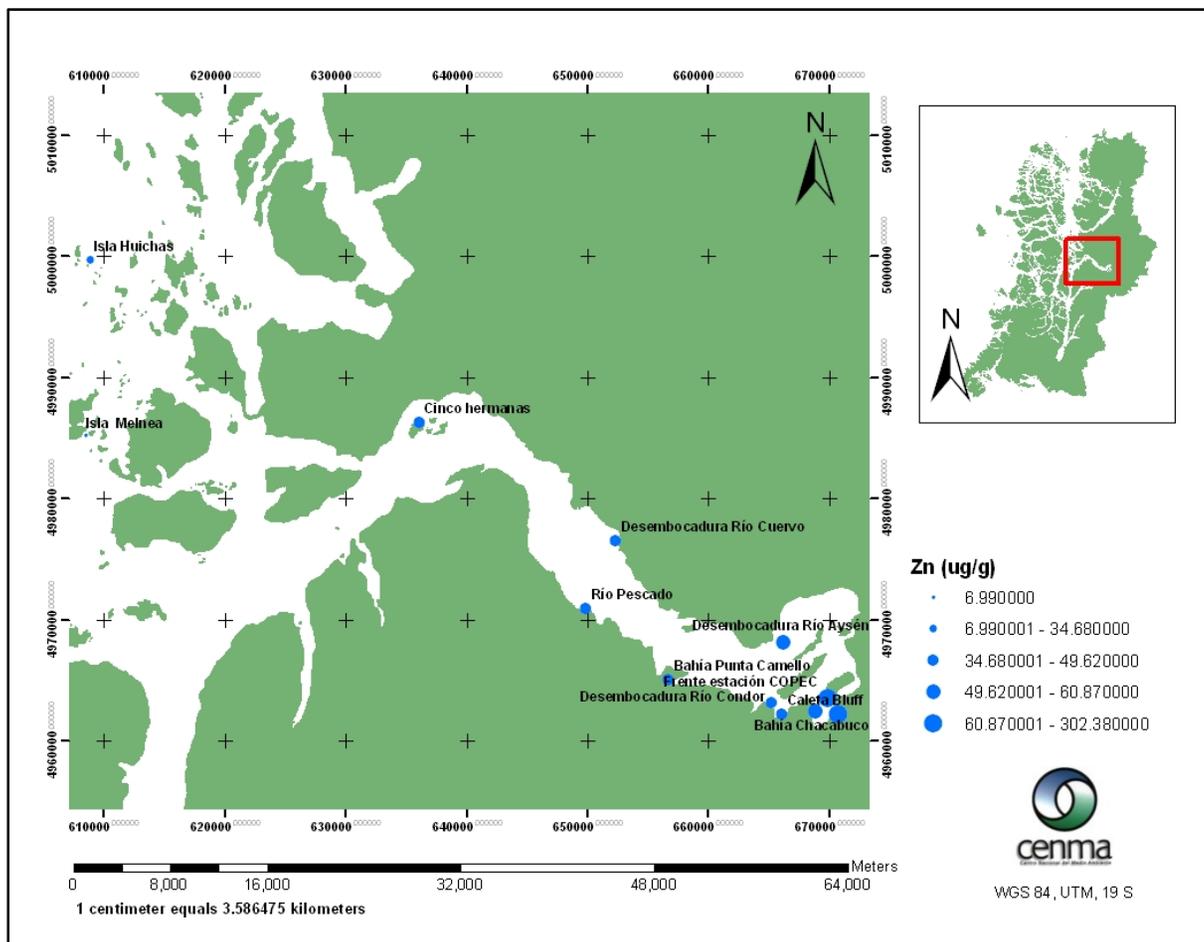
ANEXO 2. Concentración de Zinc (ug/g), en sedimentos marinos del Fiordo Aysén



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°2

EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE ESTUDIO: FIORDO AISÉN





INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

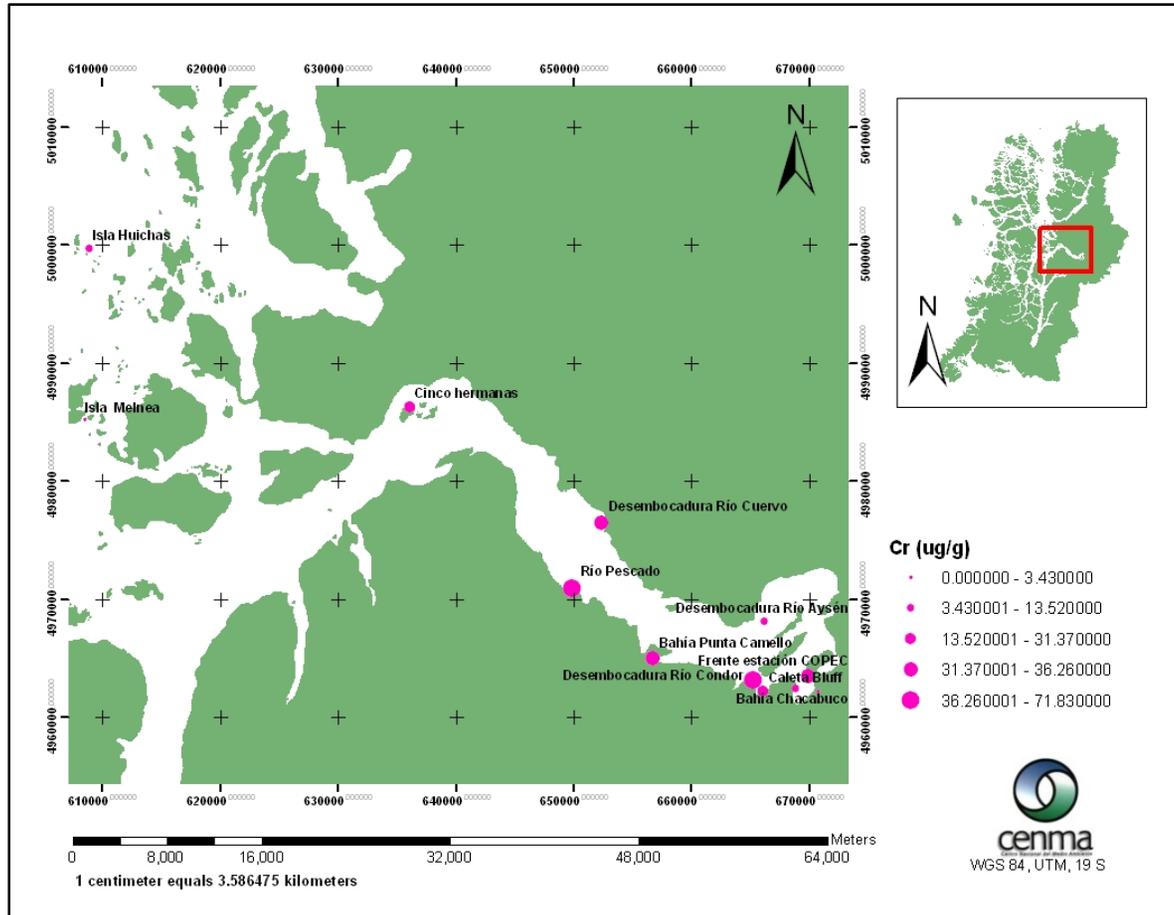
ANEXO 3. Concentración de Cromo (ug/g), en sedimentos marinos del Fiordo Aysén



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°2

EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE ESTUDIO: FIORDO AISÉN





INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

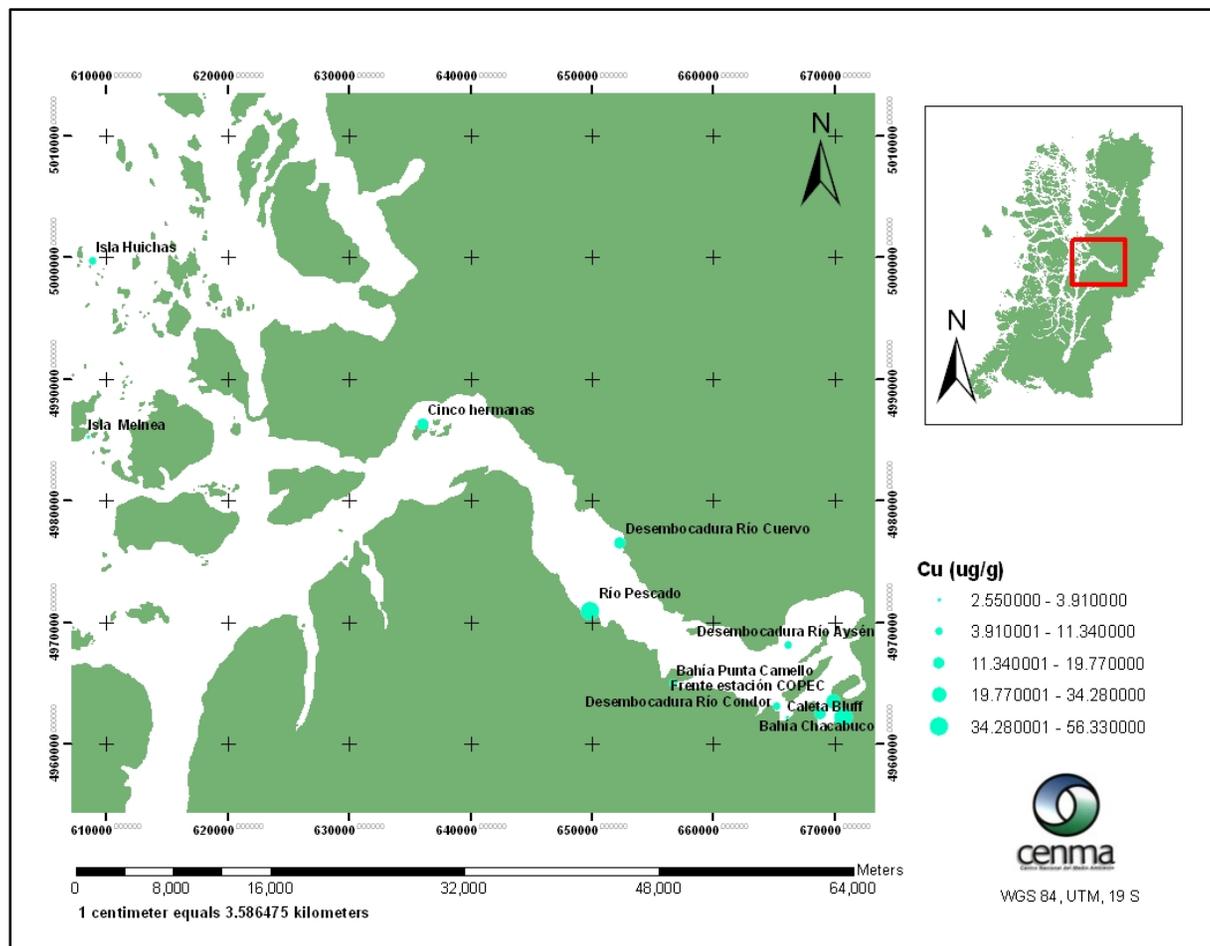
ANEXO 4. Concentración de Cobre (ug/g), en sedimentos marinos del Fiordo Aysén



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°2

EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE ESTUDIO: FIORDO AISÉN





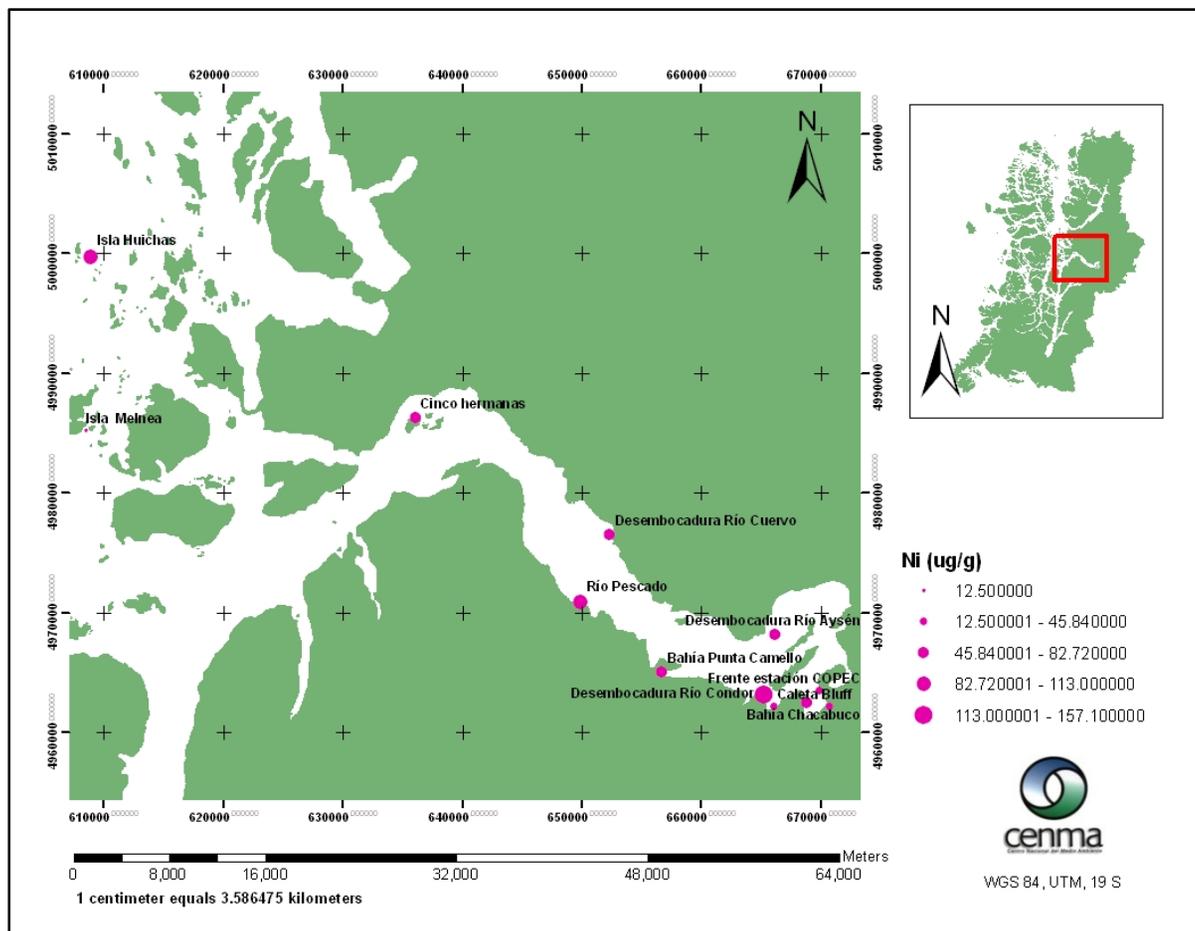
INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

ANEXO 5. Concentración de Níquel (ug/g), en sedimentos marinos del Fiordo Aysén



INFORME TÉCNICO N°2

EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE ESTUDIO: FIORDO AISÉN





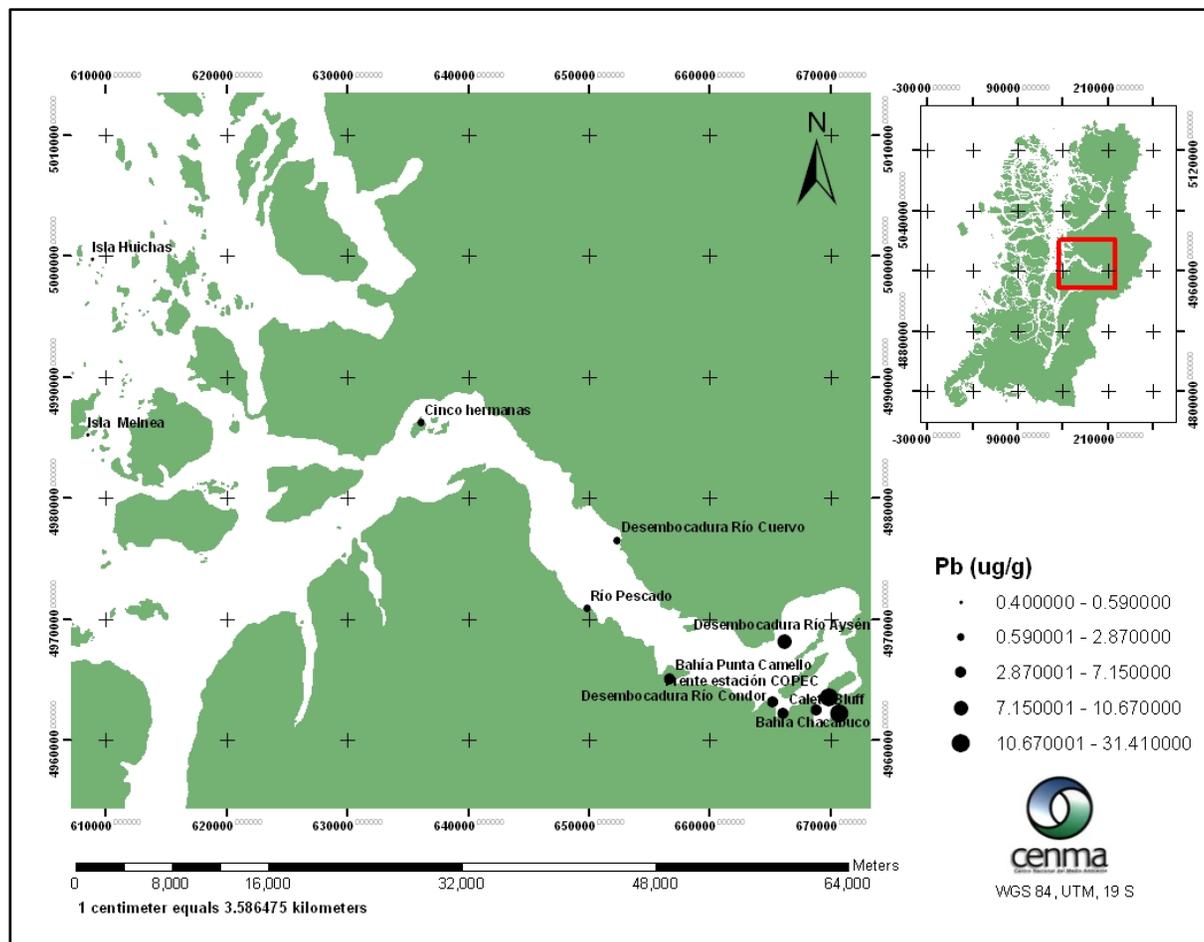
INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

ANEXO 6. Concentración de Plomo (ug/g), en sedimentos marinos del Fiordo Aysén



INFORME TÉCNICO N°2

EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE ESTUDIO: FIORDO AISÉN





INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

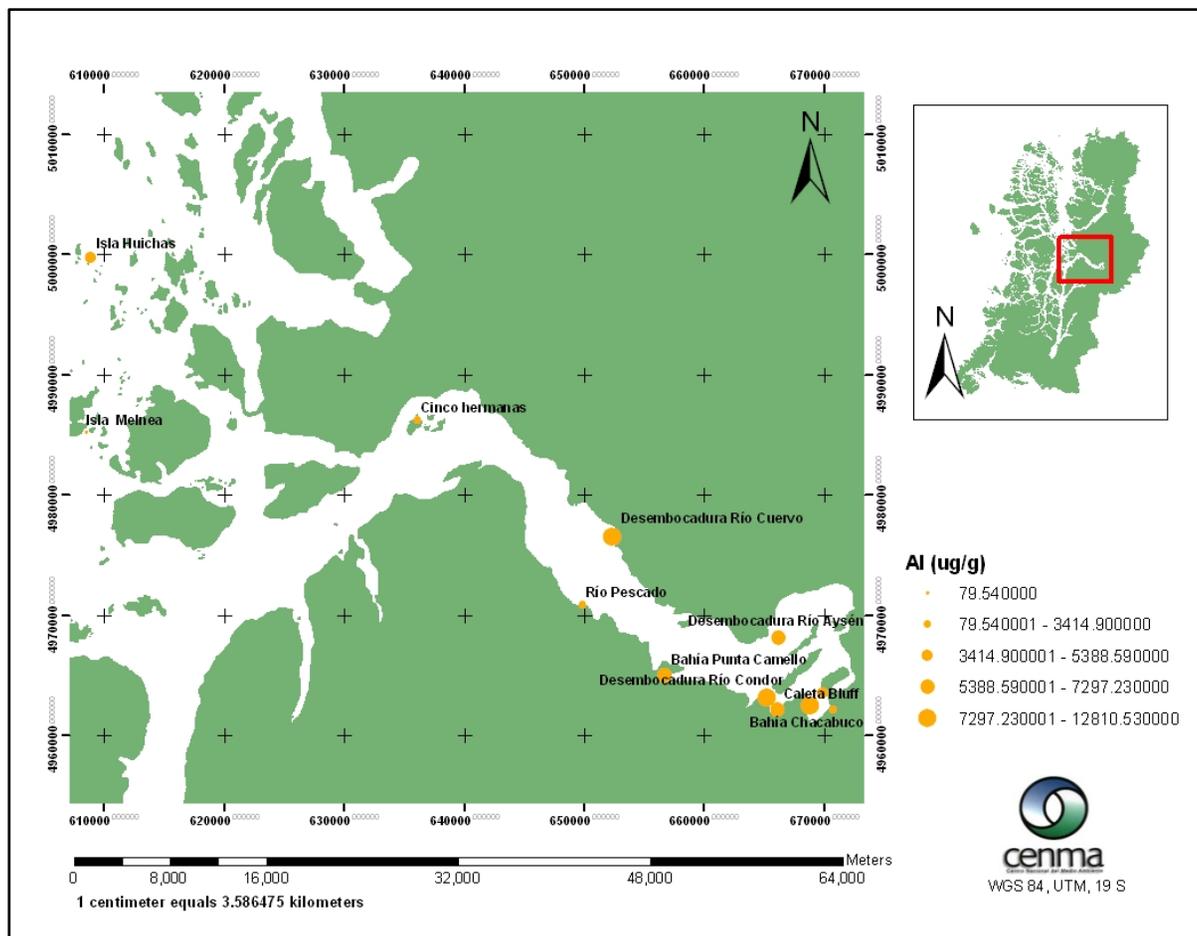
ANEXO 7. Concentración de Aluminio (ug/g), en sedimentos marinos del Fiordo Aysén



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°2

EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE ESTUDIO: FIORDO AISÉN





INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

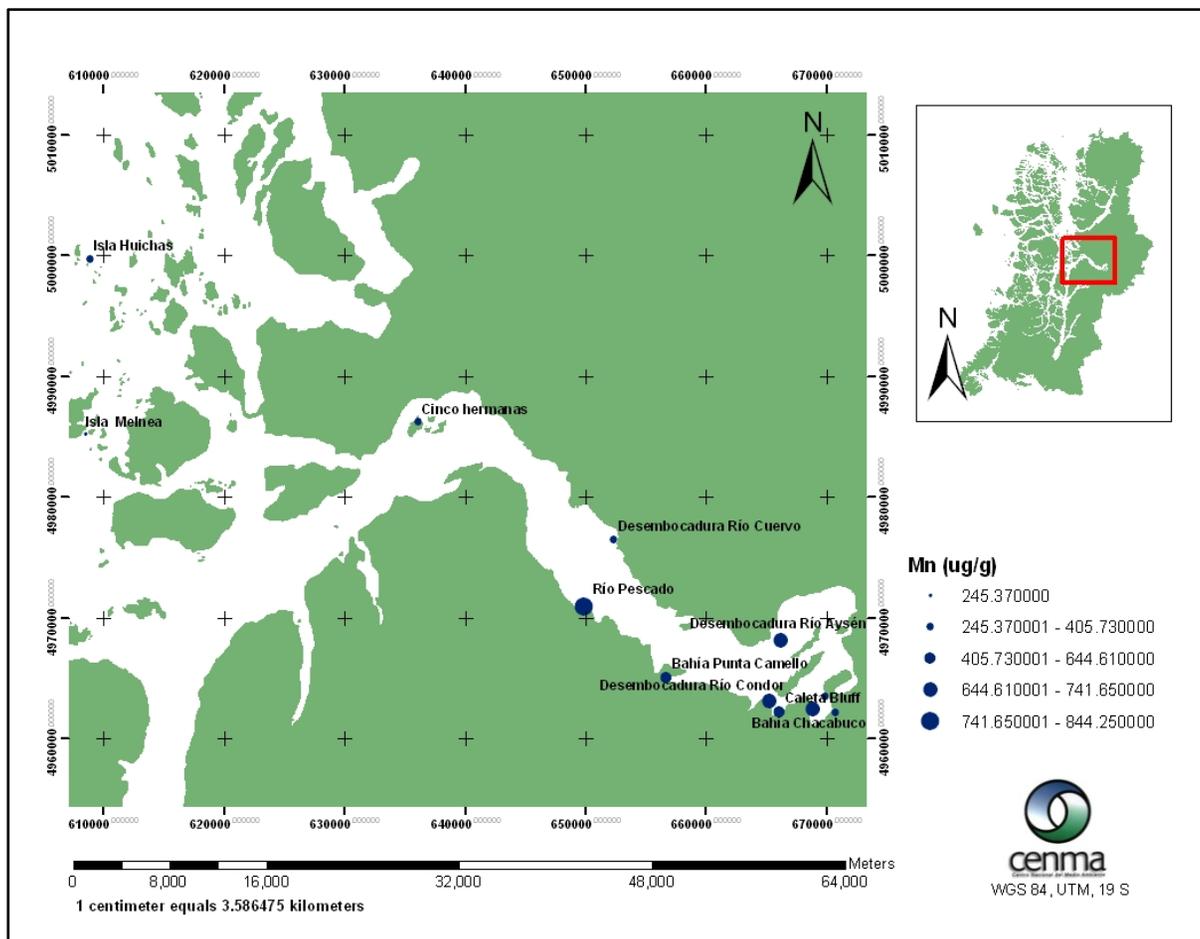
ANEXO 8. Concentración de Manganeso (ug/g), en sedimentos marinos del Fiordo Aysén



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°2

EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE ESTUDIO: FIORDO AISÉN





INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

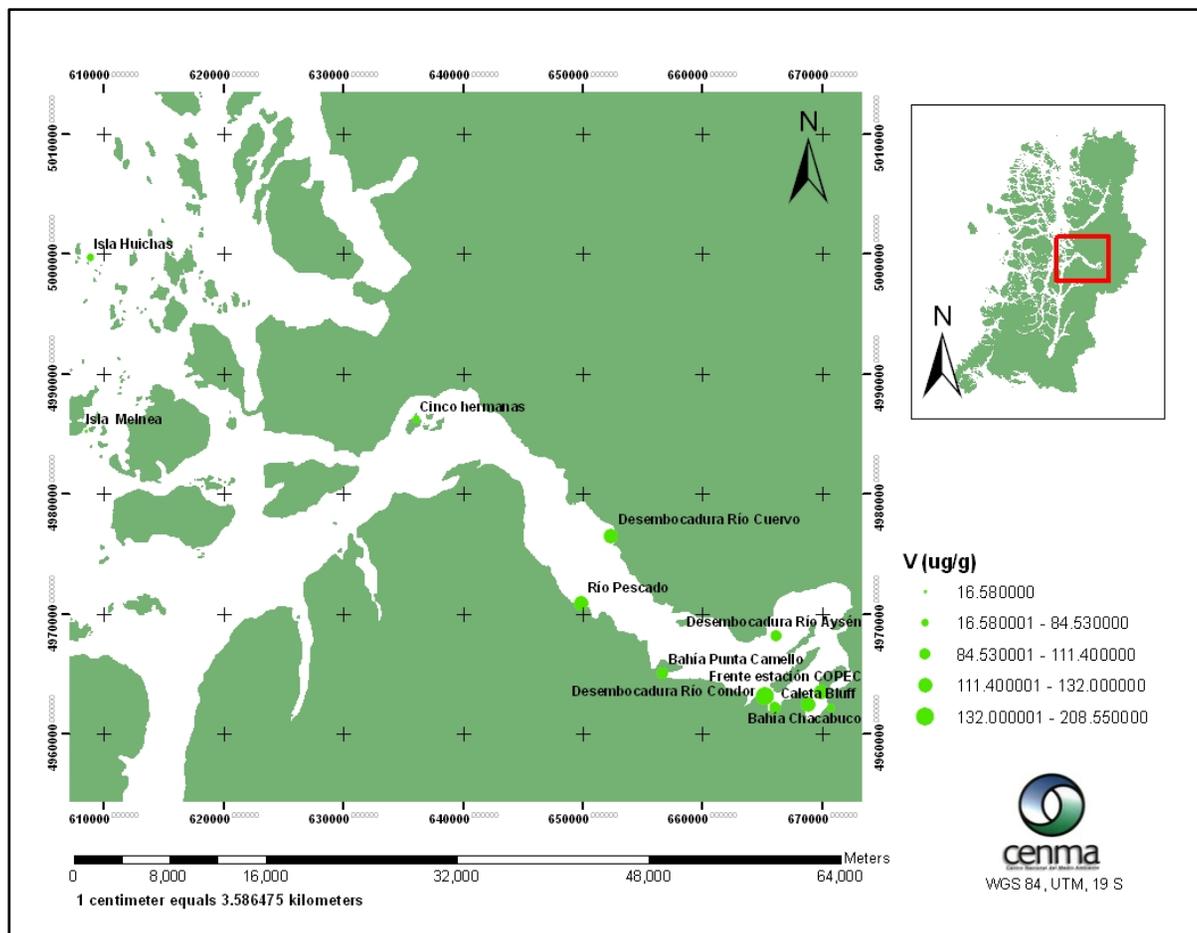
ANEXO 9. Concentración de Vanadio (ug/g), en sedimentos marinos del Fiordo Aysén



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°2

EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE ESTUDIO: FIORDO AISÉN





INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

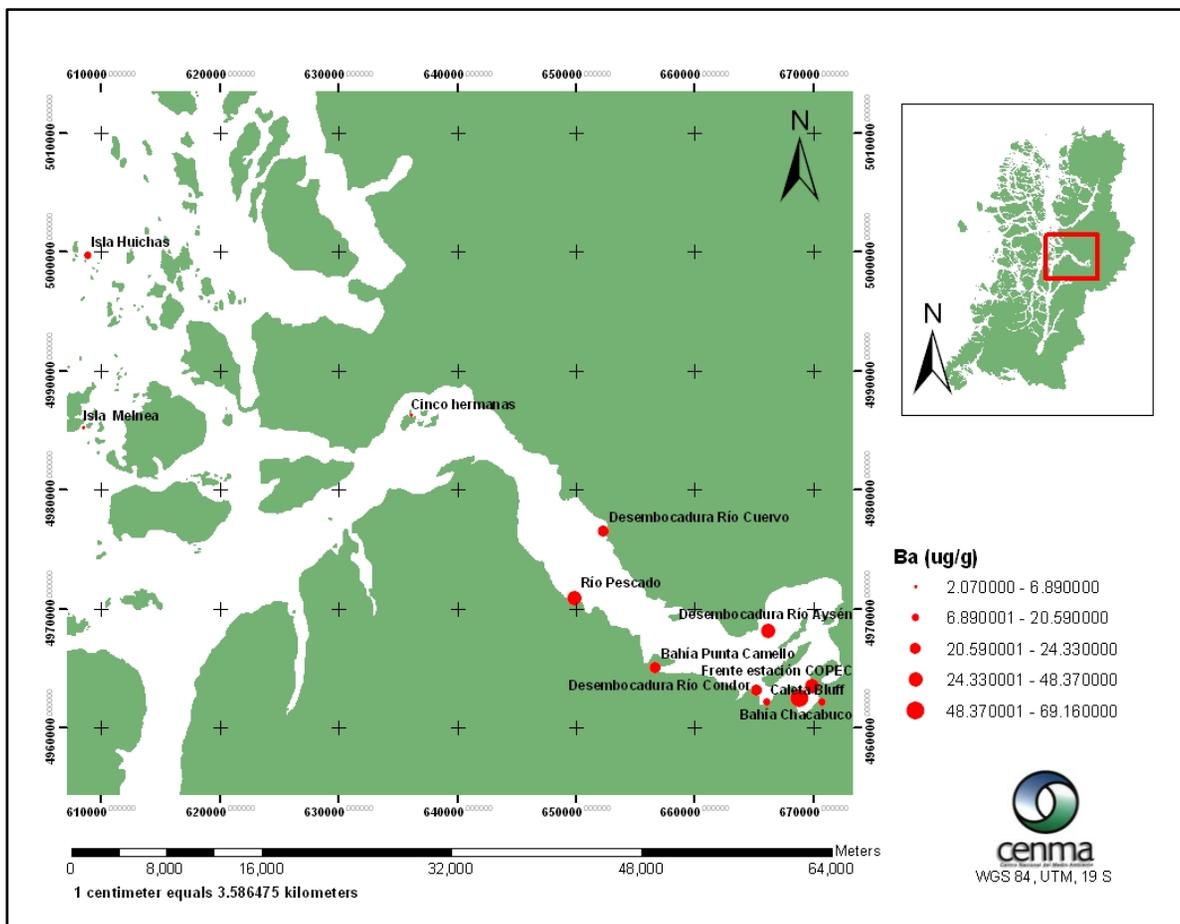
ANEXO 10. Concentración de Bario (ug/g), en sedimentos marinos del Fiordo Aysén



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°2

EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE ESTUDIO: FIORDO AISÉN





INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

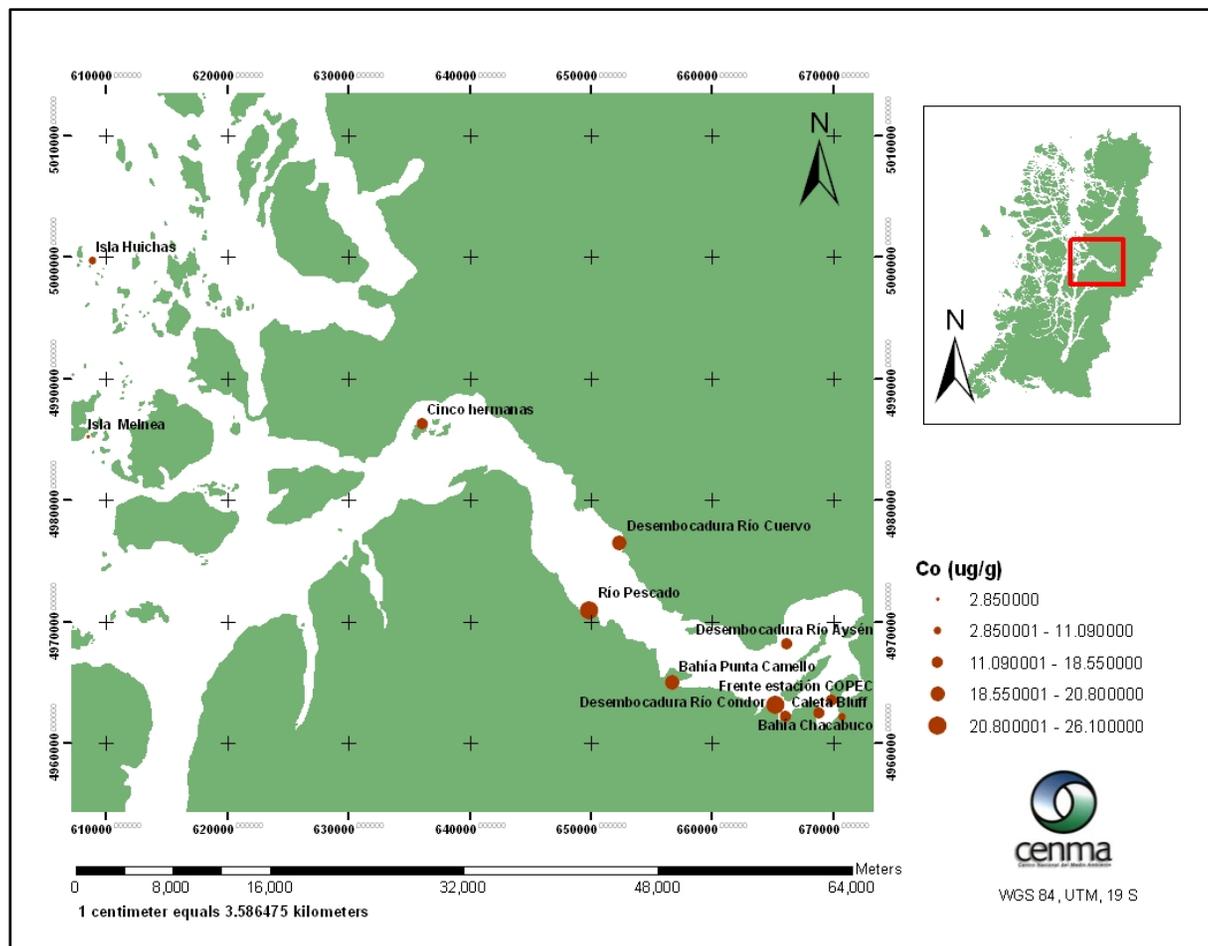
ANEXO 11. Concentración de Cobalto (ug/g), en sedimentos marinos del Fiordo Aysén



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°2

EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE ESTUDIO: FIORDO AISÉN





INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

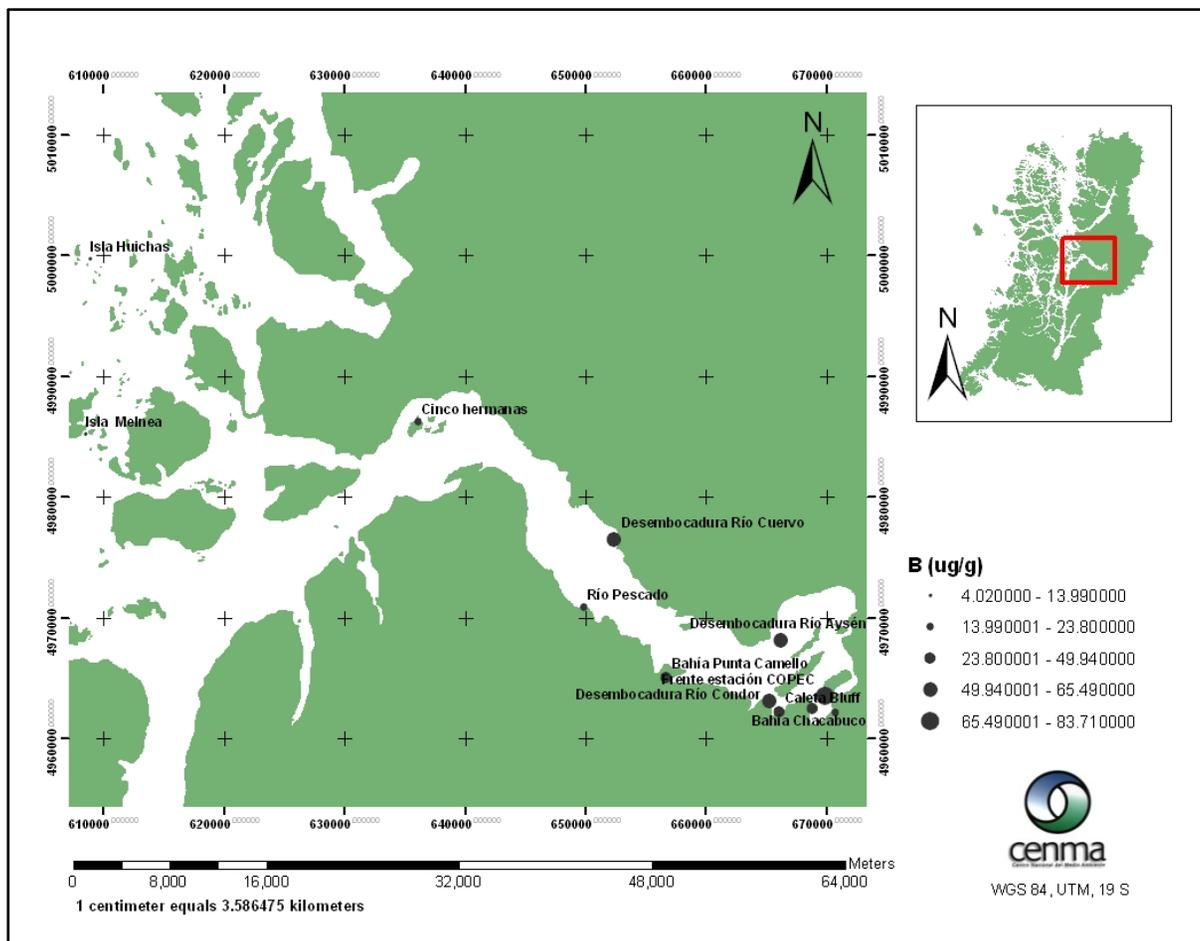
ANEXO 12. Concentración de Boro en sedimentos marinos del Fiordo Aysén



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°2

EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE ESTUDIO: FIORDO AISÉN





INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

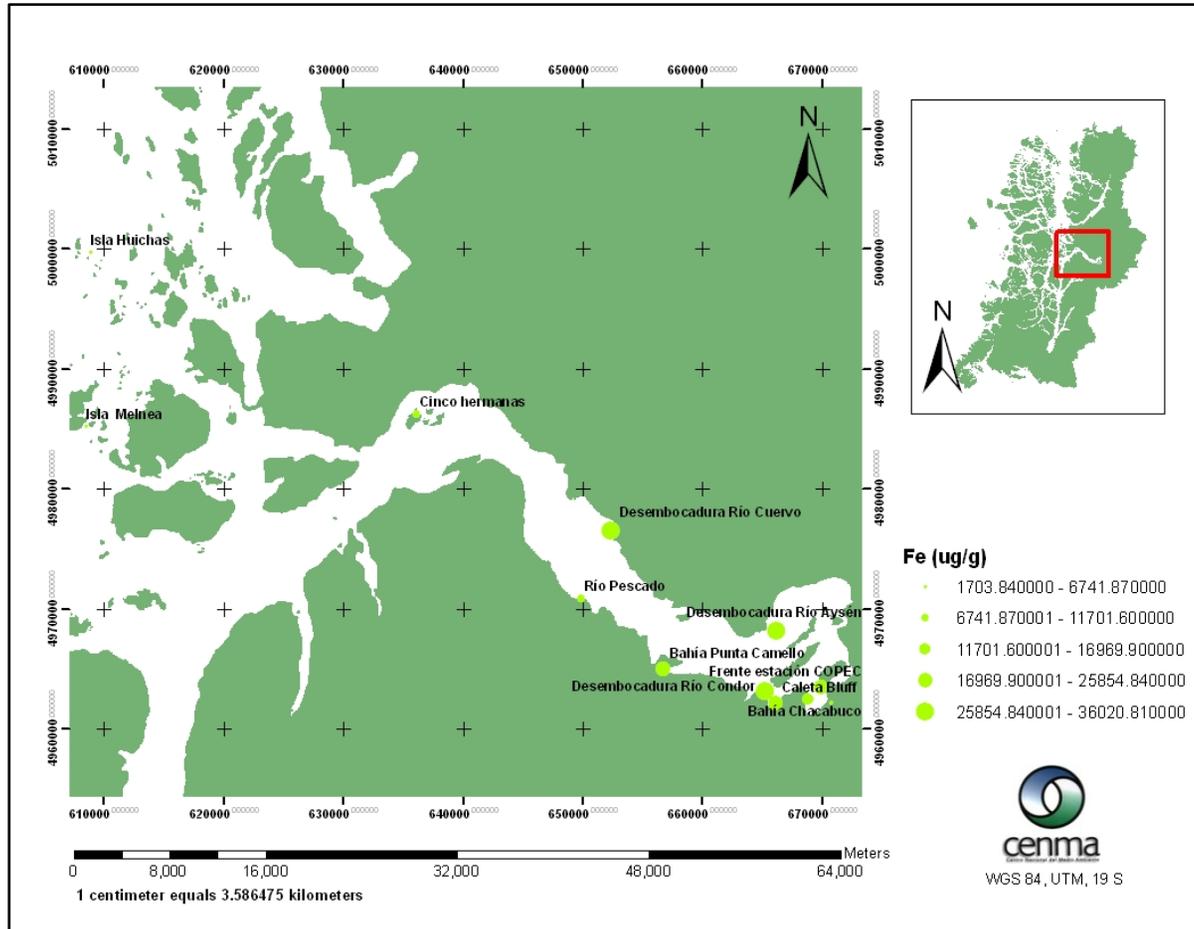
ANEXO 13. Concentración de Hierro en sedimentos marinos del Fiordo Aysén



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°2

EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE ESTUDIO: FIORDO AISÉN





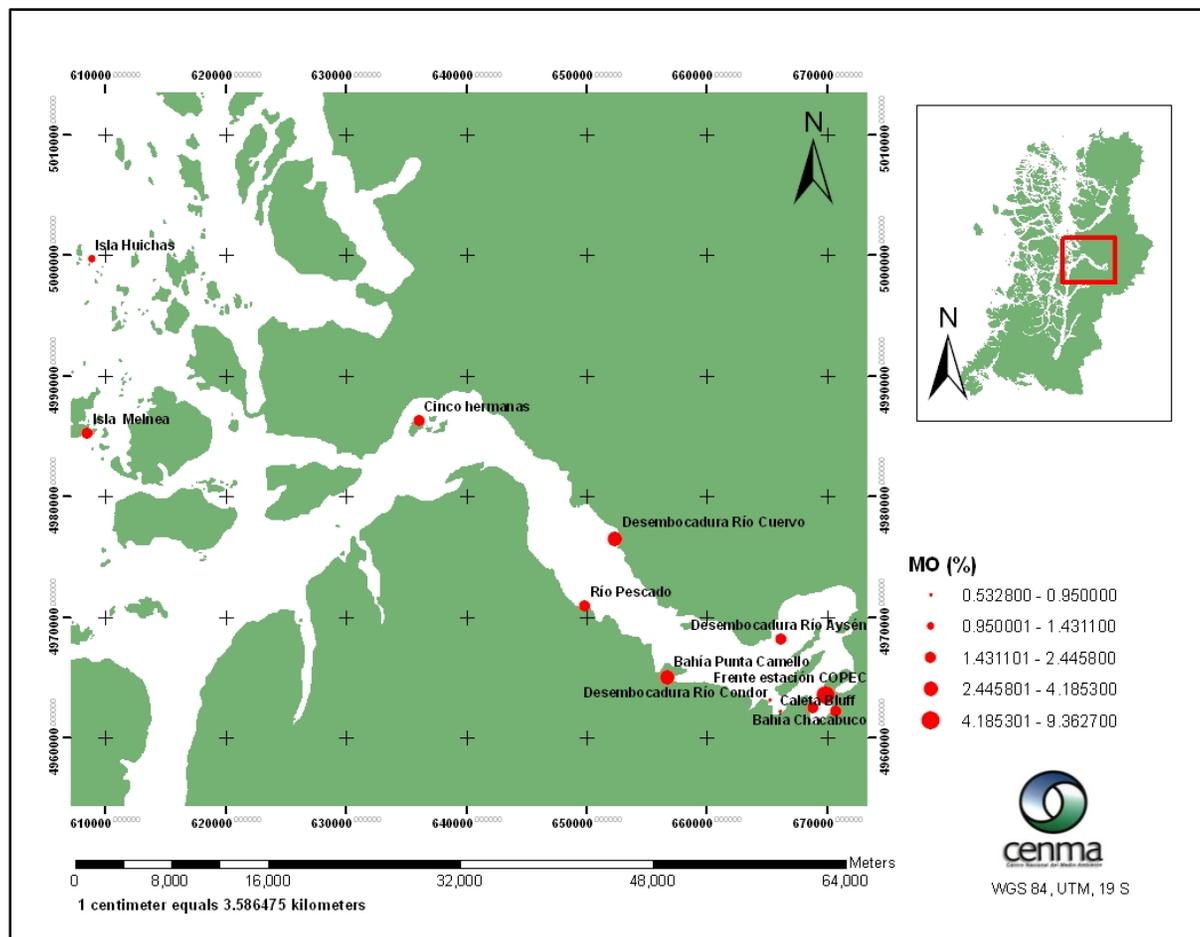
INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN

ANEXO 14. Concentración de Materia Orgánica (%) en sedimentos marinos del Fiordo
Aysén



INFORME TÉCNICO N°2

EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN





INFORME TÉCNICO N°2
EVALUACIÓN DE PROTOCOLOS ARMONIZADOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS
DE CONTAMINANTES RELEVANTES EN EL MEDIO MARINO. CASO DE
ESTUDIO: FIORDO AISÉN



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.
ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

ANEXO 5. Manual de Uso de Fichas estandarizadas de muestreo y análisis y lista de chequeo



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°3
MANUAL DE USO DE FICHAS ESTANDARIZADAS Y LISTAS DE CHEQUEO
PARA AMBIENTES MARINOS

INFORME TÉCNICO N°3

“MANUAL DE USO DE FICHAS ESTANDARIZADAS Y LISTA DE CHEQUEO PARA AMBIENTES MARINOS”

Elaborado por el Centro Nacional del Medio Ambiente
(CENMA) para el Ministerio del Medio Ambiente (MMA)

Santiago de Chile

Diciembre 2011



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°3
MANUAL DE USO DE FICHAS ESTANDARIZADAS Y LISTAS DE CHEQUEO
PARA AMBIENTES MARINOS

Informe preparado por:

Dra. Isel Cortes Nodarse

Jefe de Laboratorio de Química Ambiental-CENMA

Profesor Adjunto. Facultad de Ciencias - Universidad de Chile

MSc (c) Ana Silva Solís de Ovando

Biólogo Marino – Profesional de Apoyo proyectos - CENMA

Este Informe debe ser citado como:

I., Cortés y Silva, A. “Manual de uso de fichas estandarizadas y lista de chequeo para ambientes marinos.” INFORME N° 3, 2011.

Revisado y aprobado por:

Dr. Ítalo Serey Estay

Director Ejecutivo

Fundación Centro Nacional del Medio Ambiente.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°3
MANUAL DE USO DE FICHAS ESTANDARIZADAS Y LISTAS DE CHEQUEO
PARA AMBIENTES MARINOS

Participantes del proyecto y sus funciones:

Dra. Isel Cortés Nodarse	Coordinación general y dirección del proyecto
MSc (c) Ana G. Silva Solís de Ovando	Elaboración de Informe Final

Más información

Centro Nacional del Medio Ambiente

Av. Larraín 9975, La Reina, Santiago de Chile

788-0096 LA REINA

Teléfono: (56-2) 927-5570 Fax: (56-2) 275-1688

<http://www.cenma.cl>



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°3
MANUAL DE USO DE FICHAS ESTANDARIZADAS Y LISTAS DE CHEQUEO
PARA AMBIENTES MARINOS

ÍNDICE

CAPÍTULO I: NATURALEZA Y PROPÓSITO	5
CAPÍTULO II: FUNDAMENTOS.....	5
CAPÍTULO IV: USO DE LA FICHA DE MUESTREO	8
CAPITULO VI: USO DE LA FICHA DE ANÁLISIS	9
CAPITULO VII: USO DE LA LISTA DE CHEQUEO	11



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°3

MANUAL DE USO DE FICHAS ESTANDARIZADAS Y LISTAS DE CHEQUEO PARA AMBIENTES MARINOS

CAPÍTULO I: NATURALEZA Y PROPÓSITO

El propósito de las fichas estandarizadas de muestreo y análisis de ambientes marinos, es por una parte permitir acercar y familiarizar las terminologías, metodologías, utilizadas en los procesos de muestreo y análisis de matrices ambientales de ambientes marinos (agua, sedimentos, biota) y por otra, estandarizar los datos que son obtenidos mediante el muestreo y análisis, permitiendo que la data recolectada en sucesivos eventos de monitoreo se realicen manteniendo una metodología única, unidades comparables y técnicas de análisis adecuadas, entre otros aspectos.

CAPÍTULO II: FUNDAMENTOS

En la formulación y elaboración tanto de las fichas (muestreo y análisis) como de la lista de chequeo, se han tenido en cuenta:

- a. Las metodologías adecuadas de acuerdo al tipo de cuerpo de agua (estuario, bahía, fiordo, etc.), tipo y características del sedimento (fango, arena, arcilla, roca), organismos biológicos a muestrear; es decir el objetivo del muestreo y las condiciones del ambiente a muestrear deben ser criterios esenciales para la decisión de la metodología a utilizar. (la selección de una metodología incorrecta pone en riesgo la representatividad de los datos).
- b. Las unidades de medida en la que deben presentarse cada uno de los parámetros de interés medidos en muestras de agua, sedimentos y biota.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°3
MANUAL DE USO DE FICHAS ESTANDARIZADAS Y LISTAS DE CHEQUEO
PARA AMBIENTES MARINOS

- c. El número o volumen requerido de muestra para llevar a cabo los análisis de contaminantes relevantes.
- d. Los criterios de estandarización para las muestras biológicas, las que considera estandarizar los individuos por talla, sexo, edad, etc.
- e. Las profundidades de muestreo para determinados tipos e cuerpos de agua que presentan estratificación de sus aguas.
- f. Las metodologías de muestreo, señaladas en el Informe N°1, “Protocolos de muestreo y análisis de contaminantes relevantes en el medio marino”
- g. Los criterios para la adecuada mantención y almacenamiento (preservantes a utilizar, o técnicas de enfriamiento o congelación), de las muestras, con el objeto de preservar los valores del parámetro o parámetros a determinar hasta el momento de su análisis
- h. Una correcta identificación de la muestra
- i. Condiciones meteorológicas, que permitan realizar muestreos comparables en el tiempo
- j. En el caso de los análisis, se debe tener en cuenta los límites de detección y cuantificación del método
- k. La identificación del método mediante códigos

CAPÍTULO III: ESTRUCTURA

La ficha estandarizada de muestreo está organizada siguiendo un orden lógico tomando en cuenta el proceso mismo de muestreo. La que toma en cuenta el tipo de muestra (agua, sedimento y biota), la caracterización del ambiente a muestrear (tipo de cuerpo de agua, características propias del sedimento, tipo de organismo biológico a muestrear), criterios de estandarización del muestreo (profundidad de



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°3

MANUAL DE USO DE FICHAS ESTANDARIZADAS Y LISTAS DE CHEQUEO
PARA AMBIENTES MARINOS

muestreo en agua y sedimento, criterios de talla y sexo para organismos biológicos), las metodologías de muestreo adecuadas para cada situación y las técnicas de almacenamiento y conservación que deben mantenerse para la validez de los resultados.

La ficha estandarizada de análisis, por su parte, establece en primer lugar los análisis *in situ* que deben ser llevados a cabo para las muestras de agua y sedimentos.

En segundo lugar establece los criterios principales para los análisis de laboratorio para cada una de las muestras (agua, sedimento y biota), dentro de estos criterios se pueden señalar: el método adecuado a utilizar, los límites de detección y cuantificación de cada método y su adecuación al cuerpo de agua a monitorear, el volumen mínimo requerido de muestra necesario para llevar a cabo los análisis, el tiempo máximo de almacenamiento de las muestras, y la referencia del método.

Cada celda debe ser llenada, manteniendo las indicaciones requeridas para cada ítem.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°3

MANUAL DE USO DE FICHAS ESTANDARIZADAS Y LISTAS DE CHEQUEO PARA AMBIENTES MARINOS

CAPÍTULO IV: USO DE LA FICHA DE MUESTREO

En la primera sección, el usuario debe llenar la ficha con las características del cuerpo de agua que va a ser monitoreado, así como las especificaciones de su ubicación (coordenadas geográficas, WGS 84, 19S, UTM), las condiciones meteorológicas y de marea que de manera indirecta afectan el proceso mismo de toma de muestra, la hora de muestreo y la estación de año en la que se lleva a cabo, la que revierte importancia en períodos de lluvia permitiendo que la escorrentía aporte ciertos elementos aloctonos a los cuerpos de agua en estudio.

Las secciones siguientes establecen una guía para diferenciar el tipo de cuerpo de agua a monitorear entre estuario, bahía y fiordo, cada uno de los cuales si presenta características de estratificación requiere de la realización de un perfil en profundidad de sus características, se ha establecido un valor de 4 profundidades cuando un cuerpo de agua presenta estratificación.

Con respecto al muestreo de sedimentos se debe incorporar una caracterización indicada en la ficha correspondiente al color y olor de la muestra, criterios que permiten una primera aproximación para la identificación de sedimentos en estados reductivos o cercanos a niveles de anoxia.

El método de muestreo se debe establecer siguiendo como guía el informe N°1 de protocolos armonizados, esto permite uniformar y estandarizar los mecanismos de recolección para cuerpos de agua de similares características.

Las celdas de la sección de almacenamiento y conservación nos permiten identificar cualquier falla en este proceso y descartar muestras erróneamente conservadas.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°3

MANUAL DE USO DE FICHAS ESTANDARIZADAS Y LISTAS DE CHEQUEO PARA AMBIENTES MARINOS

CAPITULO VI: USO DE LA FICHA DE ANÁLISIS

La ficha estandarizada de análisis, permite establecer un estándar a los resultados y metodologías de análisis realizados a las diferentes muestras ya sea de agua, sedimento y biota.

En la sección introductoria de la ficha, se procede del mismo modo que la ficha de muestreo, procediéndose a la caracterización e identificación del cuerpo de agua que será monitoreado, considerando además aspectos claves de acreditación existente para los laboratorios que llevarán a cabo los análisis como también las acreditación de los mismos (análisis), para la obtención de resultados válidos y comparables.

En la ficha estandarizada de análisis se configura una primera sección, en la que se indican los valores de análisis que se deben realizar *in situ*, tales como medición de temperatura, salinidad (en agua) y potencial redox, oxígeno disuelto (sedimentos). Se indica cuando corresponde a realizar una muestra puntual con repeticiones y cuando corresponde realizar perfiles en profundidad, específicamente para cuerpos de agua con estratificación.

En la segunda sección se hace mención a los análisis realizados en laboratorio (metales, VOC's, semivolátiles, materia orgánica, DDT, sólidos suspendidos y nutrientes), al momento de llenar los recuadros con la información resultantes de los análisis se debe tener precaución en mantener las indicaciones señaladas en las cuales se establecen las unidades en las que debe presentarse el resultado de cada parámetro analizado, el método utilizado, los límites de detección y cuantificación del método, el tiempo máximo de almacenamiento que debe tener la



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°3

MANUAL DE USO DE FICHAS ESTANDARIZADAS Y LISTAS DE CHEQUEO PARA AMBIENTES MARINOS

muestra antes de su análisis, esto con vías de asegurar la vialidad de la muestra, indicar la referencia del método utilizado.

Todos estos criterios permitirán asegurar que los datos obtenidos en distintos análisis son acordes a los protocolos de análisis previamente establecidos.



Universidad de Chile

CAPITULO VII: USO DE LA LISTA DE CHEQUEO

La lista de chequeo estandarizada puede ser considerada como una herramienta de calidad, que nos permite verificar que la información que estamos recibiendo, ya sea la información obtenida a partir de muestreos de cuerpos de agua o a partir de resultados de análisis de diversas matrices marinas, es correcta en la medida de que los procesos que se llevaron a cabo para su obtención fueron los adecuados y en la forma en que estos datos son reportados manteniendo los lineamientos acorde a los protocolos propuesto y a los formatos establecidos y acordados para su presentación.

Los elementos considerados en la elaboración de la lista de chequeo consideran:

- a. Existencia de acreditación de laboratorio y metodología
- b. Corroborar las metodologías utilizadas con los límites de detección acordes al tipo de muestra
- c. Existencia de la cadena de custodia de la muestra y de la utilización correcta de los métodos de almacenamiento para cada una de las muestras
- d. Corroborar que la técnica de muestreo es acorde al cuerpo de agua monitoreado
- e. La existencia de la identificación adecuada de la muestra
- f. Corroborar que las unidades de cada parámetro medido estén acordes a lo indicado en los protocolos respectivos.



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°3
MANUAL DE USO DE FICHAS ESTANDARIZADAS Y LISTAS DE CHEQUEO
PARA AMBIENTES MARINOS

CAPÍTULO XI: ANEXOS



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°3
MANUAL DE USO DE FICHAS ESTANDARIZADAS Y LISTAS DE CHEQUEO
PARA AMBIENTES MARINOS

ANEXO 1. Ficha Estandarizada de muestreo



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°3

MANUAL DE USO DE FICHAS ESTANDARIZADAS Y LISTAS DE CHEQUEO
PARA AMBIENTES MARINOS

FICHA MUESTREO									
UBICACIÓN GEOGRÁFICA: COORDENADAS GEOGRÁFICAS (WGS 89 /19 S/UTM) : TIPO DE MUESTRA (AGUA/SEDIMENTO/BIOTA): Condiciones de Marea : Condiciones de viento: Hora de muestreo: Estación del año:									
AGUA			SEDIMENTO				BIOTA		
Estuario	Bahía	Fiordo	Fango	Arena	Arcilla	Roca	Moluscos		Poliquetos
ESTRATIFICACIÓN PRESENTE			Color		Olor		Criterios estandarización		
SI		NO					Observación		
4 profundidades		3 profundidades					Talla		
Sup. ____ m		Sup. ____ m	Promedio Profundidad de muestreo				Sexo		
Fondo ____ m		Medio ____ m	____ m				N° de individuos		
S. T ____ m		Fondo ____ m					Edad		
B. T ____ m			Número de muestras por punto				Otro		
Sup.: Superficie		Sup.: Superficie							
S.T: sobre termoclina									
B.T: Bajo termoclina									
MÉTODO DE MUESTREO									
Botella Van Dorn		Bidones (otros)	Draga	Corer	Pala	Corer		Recolección Manual	
Vertical	Horizontal								
			Cantidad recolectada				Número de Individuos recolectados		



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°3
MANUAL DE USO DE FICHAS ESTANDARIZADAS Y LISTAS DE CHEQUEO
PARA AMBIENTES MARINOS

Continuación ANEXO 1. Ficha estandarizada de muestreo



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°3
MANUAL DE USO DE FICHAS ESTANDARIZADAS Y LISTAS DE CHEQUEO
PARA AMBIENTES MARINOS

ANEXO 2. Ficha estandarizada de análisis



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°3

MANUAL DE USO DE FICHAS ESTANDARIZADAS Y LISTAS DE CHEQUEO
PARA AMBIENTES MARINOS

FICHA DE ANÁLISIS																		
UBICACIÓN GEOGRÁFICA: COORDENADAS GEOGRÁFICAS (WGS 89 /19 S/UTM) : TIPO DE MUESTRA (AGUA/SEDIMENTO/BIOTA): Fecha: Laboratorio: Acreditación método: Acreditación Laboratorio: Código muestra:																		
ANÁLISIS IN SITU																		
AGUA					SEDIMENTO					BIOTA								
Salinidad (‰)		Temperatura (°C)			Potencial redox (mV)			Oxígeno (mg/L)				-----						
Perfil profundidad		Perfil profundidad			Medición puntual (3)			Medición agua interfase										
Código Método																		
ANÁLISIS EN LABORATORIO																		
AGUA					SEDIMENTO							BIOTA						
	Metal	SS	VOC's	Semi VOC's	DDT	Metal	N	P	VOC's	Semi VOC's	DDT	M.O	Metal	VOC's	Semi VOC's	DDT		
Método																		
Valor medido																		
unidades																		
LD Límite de detección																		
LQ Límite de cuantificación																		
V.M.M Volumen mínimo de muestra																		



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°3
MANUAL DE USO DE FICHAS ESTANDARIZADAS Y LISTAS DE CHEQUEO
PARA AMBIENTES MARINOS

Continuación ANEXO 2. Ficha estandarizada de análisis



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°3

MANUAL DE USO DE FICHAS ESTANDARIZADAS Y LISTAS DE CHEQUEO
PARA AMBIENTES MARINOS

T. M.A Tiempo máximo de almacenamiento de muestra																
Referencia Del método Tipo Metal Hg, Cd, Pb																
Observaciones																



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°3
MANUAL DE USO DE FICHAS ESTANDARIZADAS Y LISTAS DE CHEQUEO
PARA AMBIENTES MARINOS

ANEXO 3. Lista de Chequeo estandarizada

REQUISITO	DEBIERA INDICAR	PARA	COMPROBACION
En cuanto al análisis			
Unidades	De acuerdo al protocolo de análisis indicado para cada analito y matriz	Todos los analitos	✓
Límite de detección	< LD – de acuerdo a metodología propuesta	Todos los métodos utilizados	✓
Límite de cuantificación	< LD – de acuerdo a metodología propuesta	Todos los métodos utilizados	✓
Metodología Utilizada	Código de metodología utilizada	Todos los métodos deben estar referenciados con una metodología analítica	✓
Matriz	Agua Sedimentos Biológicos	Indicar la matriz analizada	✓
Certificación del método analítico	Indicar certificación existente del método utilizado	En lo posible todos los métodos de análisis	✓
Exactitud del método	Valores de exactitud de los métodos utilizados	Para toda las metodologías utilizadas	✓
Acreditación existente	Acreditación del método de análisis Acreditación del laboratorio	Métodos de análisis Laboratorios	✓
En cuanto al muestreo			
Código de la muestra	Identificación de la muestra	Para todas las muestras en todas las matrices	✓
N° profundidades muestreadas	Profundidades muestreadas indicadas en protocolos de muestreo	Todas las estaciones en profundidad y estuarios estratificados	✓
Copia de la cadena de custodia	La recepción de los datos debe incorporar los registros del muestreo	Información requerida para todas las muestras colectadas (agua, sedimento, biológico)	✓
Fecha y hora	Se debe indicar antecedentes de fecha y hora del muestreo	Para todas las muestras colectadas	✓
Coordenadas geográficas	Indicar el punto exacto de muestreo, mediante coordenadas	Todas las estaciones muestreadas	✓
Técnica de muestreo	Indicar la técnica de acuerdo a la matriz a muestrear y al protocolo indicado en el presente informe	Para cada una de las matrices muestreadas	✓
Cuerpo de agua	Cuerpos agua marina - estuarina	Para cada muestra colectada, permite verificar la adecuación de los análisis de acuerdo a la matriz	✓



Universidad de Chile

INFORME TÉCNICO N°3
MANUAL DE USO DE FICHAS ESTANDARIZADAS Y LISTAS DE CHEQUEO
PARA AMBIENTES MARINOS



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.
ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

ANEXO 3. Fichas estandarizadas de Muestreo y Análisis en ambientes marinos.

FICHA MUESTREO

UBICACIÓN GEOGRÁFICA:
 COORDENADAS GEOGRÁFICAS (WGS 89 /19 S/UTM) :
 TIPO DE MUESTRA (AGUA/SEDIMENTO/BIOTA):
 Condiciones de Marea :
 Condiciones de viento:
 Hora de muestreo:
 Estación del año:

AGUA			SEDIMENTO				BIOTA	
Estuario	Bahía	Fiordo	Fango	Arena	Arcilla	Roca	Moluscos	Poliquetos
ESTRATIFICACIÓN PRESENTE			Color	Olor		Criterios estandarización		
SI	NO					Observación		
4 profundidades	3 profundidades					Talla	_____	
Sup. _____ m	Sup. _____ m	Promedio Profundidad de muestreo		Sexo	_____			
Fondo _____ m	Medio _____ m	_____ m		N° de individuos	_____			
S. T _____ m	Fondo _____ m	Número de muestras por punto		Edad	_____			
B. T _____ m				Otro	_____			
Sup.: Superficie	Sup.: Superficie							
S.T: sobre termoclina								
B.T: Bajo termoclina								
MÉTODO DE MUESTREO								
Botella Van Dorn		Bidones (otros)	Draga	Corer	Pala	Corer	Recolección Manual	
Vertical	Horizontal							
			Cantidad recolectada			Número de Individuos recolectados		

ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

Uso de preservantes

HNO ₃	H ₂ SO ₄	Otro	Solo refrigeración		Sólo refrigeración	
			4°C	Congelación	4° C	congelación

Envases

<p>Metales ___ P – T SS ___ V – P VOC's ___ V Semi VOC ___ V P ___ V – P N ___ V – P</p> <p>P: polietileno V: vidrio T: teflón</p> <p>SS: Sólidos suspendidos VOC'S: orgánicos volátiles Semi VOC: orgánicos semivolátiles</p>	<p>Metales ___ P VOC's ___ V Semi VOC ___ V P ___ V – P N ___ V – P</p> <p>P: polietileno V: vidrio</p> <p>VOC'S: orgánicos volátiles Semi VOC: orgánicos semivolátiles</p>	<p>Metales ___ Bolsas plásticas VOC's ___ Vidrio cubiertas con aluminio Semi VOC ___ Vidrio cubiertas con aluminio</p> <p>VOC'S: orgánicos volátiles Semi VOC: orgánicos semivolátiles</p>
---	--	--



Universidad de Chile

INFORME FINAL CONSOLIDADO.
ARMONIZACIÓN DE CRITERIOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS TENDIENTES A
LA MODELACIÓN DE LA CALIDAD AMBIENTAL DE ESTUARIOS Y BAHÍAS

ANEXO 4. Lista de Chequeo estandarizada.

REQUISITO	DEBIERA INDICAR	PARA	COMPROBACIÓN
En cuanto al análisis			
Unidades	De acuerdo al protocolo de análisis indicado para cada analito y matriz	Todos los analitos	✓
Límite de detección	< LD – de acuerdo a metodología propuesta	Todos los métodos utilizados	✓
Límite de cuantificación	< LD – de acuerdo a metodología propuesta	Todos los métodos utilizados	✓
Metodología Utilizada	Código de metodología utilizada	Todos los métodos deben estar referenciados con una metodología analítica	✓
Matriz	Agua Sedimentos Biológicos	Indicar la matriz analizada	✓
Certificación del método analítico	Indicar certificación existente del método utilizado	En lo posible todos los métodos de análisis	✓
Exactitud del método	Valores de exactitud de los métodos utilizados	Para toda las metodologías utilizadas	✓
Acreditación existente	Acreditación del método de análisis Acreditación del laboratorio	Métodos de análisis Laboratorios	✓
En cuanto al muestreo			
Código de la muestra	Identificación de la muestra	Para todas las muestras en todas las matrices	✓
Nº profundidades muestreadas	Profundidades muestreadas indicadas en protocolos de muestreo	Todas las estaciones en profundidad y estuarios estratificados	✓
Copia de la cadena de custodia	La recepción de los datos debe incorporar los registros del muestreo	Información requerida para todas las muestras colectadas (agua, sedimento, biológico)	✓
Fecha y hora	Se debe indicar antecedentes de fecha y hora del muestreo	Para todas las muestras colectadas	✓
Coordenadas geográficas	Indicar el punto exacto de muestreo, mediante coordenadas	Todas las estaciones muestreadas	✓
Técnica de muestreo	Indicar la técnica de acuerdo a la matriz a muestrear y al protocolo indicado en el presente informe	Para cada una de las matrices muestreadas	✓
Cuerpo de agua	Cuerpos agua marina - estuarina	Para cada muestra colectada, permite verificar la adecuación de los análisis de acuerdo a la matriz	✓