

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ESCUELA DE POSTGRADO
MAESTRÍA EN QUÍMICA DEL MEDIO AMBIENTE



“ESTUDIO DE NIVELES DE Pb (II) y Cd (II) EN MACROALGAS MARINAS DEL LITORAL AREQUIPEÑO, COMO PROPUESTA DE BIOINDICADOR MARINO, AREQUIPA-2015”

Tesis presentada por el:

BACHILLER JUAN LEONARDO QUISPE GALDOS

Para optar al grado de Maestro en:
Química del Medio Ambiente

Arequipa-Perú
2016

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.	4
ABSTRACT	6
INTRODUCCIÓN.....	8
HIPÓTESIS	10
OBJETIVOS.....	11
CAPÍTULO I	
MARCO TEÓRICO	12
I.1.1. INTRODUCCIÓN	12
I.1.2. METALES PESADOS.....	13
I.1.3. PRINCIPALES CONTAMINANTES EXISTENTES EN EL MEDIO ACUÁTICO	21
I.1.4. MACROALGAS.....	24
I.1.5 BIOINDICADORES	31
I.1.6 VOLTAMPEROMETRÍA	32
CAPÍTULO II	
MATERIALES Y MÉTODOS.....	40
II.1.- CAMPO DE VERIFICACIÓN	40
II.2. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN	40
II.2.1. Técnicas	40
II.2.1.1 Validación del método para determinar Pb(II) y Cd(II)	40
II.2.1.2 Método para la determinación de Pb(II) y Cd(II)	41
II.2.1.3 Tratamiento de muestras	41
II.2.2. Análisis estadístico	42
II.2. 3. Materiales y reactivos	46
II.3 ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	46

CAPÍTULO III	
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
III.1. VALIDAR EL MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE Pb(II) Y Cd(II) EN AGUA Y MACROALGAS MARINAS POR VOLTAMPEROMETRÍA DE REDISOLUCIÓN ANÓDICA.....	48
III.1.1. Verificación Operacional de la estación voltamperométrica VA 757.....	48
III.1.2. Validación del método para la determinación de Cd y Pb por voltamperometría	
III.1.2.2. Parámetros de validación para la determinación de cadmio II y plomo II.....	51
A.-Linealidad.....	51
B.- Precisión.....	52
D. Límite de Detección y de Cuantificación.....	54
E. Exactitud.....	55
III.2. TRATAMIENTO DE LA MUESTRA.....	55
III.3. COMPARACIÓN DEL MÉTODO VOLTAMPEROMÉTRICO FRENTE AL DE ICP.....	58
III.4. MONITOREO DE CADMIO Y PLOMO EN MACROALGAS.....	59
CAPÍTULO IV	
CONCLUSIONES.....	66
CAPÍTULO V	
REFERENCIAS BÁSICAS.....	67
ANEXO 1 (Certificado reconocimiento).....	72



RESUMEN

El presente trabajo busca proporcionar más de una alternativa para el monitoreo de metales pesados en el litoral marino de nuestra región, para así utilizar especies propias de nuestro medio y dar a conocer el estado de contaminación del espacio marino de Arequipa.

El método usado para la determinación de las concentraciones de Cadmio y Plomo fue el de voltamperometría de redisolución anódica en cual fue validado mostrando ser lineal, exacto, preciso, con LDD y LDQ de 0.0015 y 0.0021 mg/Kg para Plomo y 0.00038 y 0.00039 mg/Kg para Cadmio, respectivamente.

Se realizaron algunas comparaciones entre la técnica de determinación voltamperométrica de Pb(II) y Cd(II) con la técnica por ICP, no se reportaron diferencias estadísticamente significativas por lo que se decidió realizar el muestreo con el método de voltamperometría de redisolución anódica.

Una vez validado y elegido el método para la determinación de los metales propuestos, se realizó un monitoreo de estos metales en macroalgas pertenecientes a las especies *Lessonia Nigresceus*, *Porphyra Columbina* y *Corallina officinalis*, las mismas que fueron tomadas de 5 puntos a lo largo del litoral de la Región Arequipa, correspondientes a el litoral de Camaná, Puerto de Atico, Mollendo, Periferie de Tisur y Punta de Bombón, de estos puntos a su vez se tomaron muestras a dos distancias, vale decir, en la orilla y a una milla y media de distancia mar adentro, por cada punto de muestreo se tomaron 3 muestras, las mismas que una vez obtenidas fueron trasladadas al laboratorio, lavadas con agua calidad ultrapura y procesadas para la determinación del contenido de los metales pesados propuestos, este proceso de muestreo se realizó una vez por cada estación del año de otoño del 2015 a invierno del 2016.

Al realizar el monitoreo de las macroalgas en los 5 puntos de muestreo se encontraron concentraciones que van de 5.51 a 104.73 mg de Plomo por Kilogramo de macroalga y de 2.24 a 10.00 mg de Cadmio por kilogramo de macroalga, mostrando la macroalga *Lessonia nigresceus* una mayor captación de Cadmio II y Plomo II., habiendo fluctuaciones entre estaciones en el año.

En paralelo al monitoreo de las concentraciones de Pb(II) y Cd(II) en las muestras de macroalgas, se realizó también la determinación de los metales pesados en aguas de mar del litoral de la Región Arequipa, correspondientes a los mismos puntos de muestreo del monitoreo, habiendo concentraciones de Plomo en el rango de 24.81 a 34.8 mg/L y de 3.17 a 4.37 mg/L de Cadmio, estando solo en el punto de Tisur por encima de los niveles conocidos como seguros.

Palabras Clave: Cadmio, Plomo, Voltamperometría, macroalga, monitoreo.



ABSTRACT

This paper seeks to provide more than one alternative for monitoring heavy metals in the marine coast of our region, so the use of these species that are in our media and announce the state of pollution of Arequipa's marine space.

The method for determining the concentrations of cadmium and lead was the anodic stripping voltammetry which was validated shown to be linear, accurate, precise, with LDD and LDQ 0.0015 and 0.0021 mg / kg for lead and 0.00038 and 0.00039 mg / kg for cadmium, respectively.

Some comparisons were made between voltammetric technique determination of Pb (II) and Cd (II) with art by ICP technique were made, no statistically significant difference were reported so it was decided to conduct the sampling method anodic stripping voltammetry.

Once validated and chosen the method for the determination of the proposed metals, monitoring of these metals was carried out in macroalgae belonging to the species *Lessonia Nigresceus*, *Porphyra Columbina* and *Corallina officinalis*, the same as they

were taken from 5 points along the coast of Arequipa, corresponding to the coast of Camaná, Puerto Atico, Mollendo, Periferie of Tisur and Punta de Bombón, of these points, samples were taken at two distances, on the shore and a mile and a half distance offshore, for each sampling point, 3 samples were taken, the same as once were obtained were transferred to the laboratory, washed with ultrapure water quality and processed for determination of heavy metals proposed, this sampling process was carried out once per season autumn winter 2015 to 2016.

When monitoring of macroalgae in the 5 sampling points were found concentrations ranging from 5.51 to 104.73 mg of lead per kilogram of macroalgae and 2.24 to 10.00 mg of cadmium per kilogram of macroalgae they, showing macroalgae *lessonia nigresceus* increased uptake Cadmium II and Lead II., having fluctuations between seasons in the year.

In parallel to the monitoring of the concentrations of Pb (II) and Cd (II) in samples of macroalgae, it was also the determination of heavy metals in in seawater off the coast of Arequipa Region corresponding to the same sampling points monitoring, having lead concentrations in the range of 24.81 to 34.8 mg / L and 3.17 to 4.37 mg / L of cadmium, being only at the Tisur point above levels known to be safe.

Keywords: Cadmium, Lead, voltammetry, macroalgae, monitoring.



INTRODUCCIÓN

La contaminación se define como la existencia de concentraciones que se hallan sobre los valores seguros de ciertas sustancias, sedimentos u organismos en el agua o en la atmosfera, dentro de los diferentes tipos de contaminantes inorgánicos, no solo en el agua, sino en el medio ambiente en general, los metales pesados han sido identificados como los contaminantes más peligrosos. Los metales pesados son aquellas sustancias que tienen una densidad superior a los cinco gramos por centímetro cúbico (cinco veces la densidad del agua); en cierto grado estos metales son solubles en agua, pero son más solubles a pH ácidos. Los metales pesados resultan tóxicos cuando exceden las concentraciones normales; tienen efectos tóxicos sobre las células, principalmente como resultado de su capacidad para alterar o desnaturalizar las proteínas.³⁵

Los compuestos que contienen otros metales pueden alterarse, pero los metales pesados aún permanecen en las formas más tóxicas del metal. Debido a su movilidad en los ecosistemas acuáticos naturales y a su toxicidad para las formas superiores de vida, a los iones de metales pesados presentes en los abastecimientos de aguas superficiales y subterráneos se les ha dado prioridad como los contaminantes inorgánicos más importantes en el ambiente. Los metales son especies químicas no degradables ni biológica ni químicamente en la naturaleza; por tal motivo, una vez vertidos al medio ambiente, solo pueden distribuirse entre los entornos: aire, agua y suelo, a veces cambiando su estado de oxidación, o incorporándose en los seres vivos.³⁵

En el Perú, las algas de proveniencia marina son exportadas y utilizadas como materia prima en la industria de alginatos, carragenanos y agar; y en grado menor, utilizadas como alimento para humanos. En los últimos años ha habido una creciente importancia económica de estos recursos y esto ha llevado a niveles de explotación creciente. Las algas tienen una importancia social relevante, pues la recolección se realiza por pescadores artesanales y sus familias, quienes dependen total o parcialmente de estos recursos. Las algas de importancia económica son también ecológicamente significativas, no sólo por ser la base de cadenas tróficas bentónicas, sino porque además constituyen hábitat, zonas de asentamiento larval o lugares de refugio para invertebrados y peces.³⁶

La mayoría de metales pesados son bioacumulados en los órganos y tejidos blandos comestibles de peces, moluscos, crustáceos, algas y otros organismos marinos y llegan al hombre a través de la cadena alimenticia y le causan efectos negativos acumulativos, la mayoría de veces irreversibles. En las algas la vía de absorción ocurre a través de las paredes celulares y la tendencia de acumularlos está relacionada por la afinidad hacia los polisacáridos cargados negativamente en la pared celular, como un proceso de intercambio iónico principalmente con alginatos y mucopolisacáridos sulfatados reduciendo así la toxicidad de muchos metales.³⁷

En nuestro país existen algunas investigaciones que han determinado la bioacumulación de metales pesados en sistemas biológicos, sin embargo, aún no hay reportes de estudios realizados en nuestra región Arequipa, además no se ha utilizado especies algales macroscópicas de procedencia marina y de explotación para realizar dichos estudios.

HIPÓTESIS

Dado los resultados obtenidos en un trabajo preliminar y las concentraciones probables de Pb(II) y Cd(II) en agua de mar, es posible que tres especies de macroalgas marinas puedan captar estos metales, constituyéndolos en una alternativa de bioindicador de contaminación marina.

OBJETIVOS

- ✓ Validar el método para la determinación de Pb(II) y Cd(II) en agua y macroalgas marinas por voltamperometría de redisolución anódica.
- ✓ Comparar la técnica de determinación voltamperométrica de Pb(II) y Cd(II) con la técnica por ICP.
- ✓ Determinar las concentraciones de Pb(II) y Cd(II) en aguas de mar del litoral de la Región Arequipa.
- ✓ Determinar las concentraciones de Pb(II) y Cd(II) presentes en tres especies de macroalgas (*Lessonia Nigresceus*, *Corallina officinalis* y *Porphyra Columbina*).
- ✓ Evaluar las concentraciones de Pb(II) y Cd(II) en las macroalgas en diferentes estaciones del año.

CAPÍTULO I MARCO TEÓRICO

I.1.1. INTRODUCCIÓN

La contaminación por metales pesados se ha convertido en un problema mundial de gran preocupación, debido a sus efectos tóxicos altos, mayor bioacumulación en el cuerpo humano y cadena alimentaria, la naturaleza de la no biodegradabilidad, y por ser muy probablemente cancerígenos para los seres humanos. De entre los diversos iones metálicos, plomo, mercurio, cadmio, y cromo (VI) se encuentran en la parte superior de la lista de toxicidad.¹

Además estos metales en trazas son directamente tóxicos para los organismos acuáticos y también se acumulan significativamente por numerosas especies marinas. Bacterias, hongos, mejillones, peces y algas, en diferentes entornos, han demostrado ser útiles como sorbentes de metales traza. En particular las macro algas son reconocidas por concentrar metales hasta niveles muchas veces más altos que las que se encuentran en aguas circundantes.

La utilidad de emplear algas para monitorear metales en el medio ambiente acuático se basa en el hecho de que estas especies responden básicamente a los metales presentes en solución en las aguas estudiadas. Además, se reconoce que las comunidades de algas podrían proporcionar información más compleja sobre la calidad del agua. La unión de metales por macro algas resulta ser fuerte, con sólo un intercambio mínimo entre los metales captados y el agua del ambiente.³

Es por esto que se planteó realizar un trabajo piloto sobre la posible concentración de Pb(II) y Cd(II) presente en tres especies existentes en el litoral Arequipeño, y con los datos obtenidos realizar un muestreo planificado en distintas zonas del litoral y épocas del año, para la postulación de estas o alguna de estas como bioindicadores de contaminación marina.

I.1.2. METALES PESADOS

Se considera metal pesado a aquel elemento que tiene una densidad igual o superior a 5g/cm^3 cuando está en forma elemental, o cuyo número atómico es superior a 20 (excluyendo a los metales alcalinos y alcalino-térreos). Su presencia en la corteza terrestre es inferior al 0.1 % y casi siempre menor del 0.01%. Junto a estos metales pesados hay otros elementos químicos que aunque son metales ligeros o no metales se suelen englobar con ellos por presentar orígenes y comportamientos asociados; es este caso del As, B, Ba y Se.³

Dentro de los metales pesados hay dos grupos:

- A) Oligoelementos o micronutrientes, que son los requeridos en pequeñas cantidades traza por plantas y animales, y son necesarios para que los organismos completen su ciclo vital. Pasando cierto umbral se vuelven tóxicos. Dentro de este grupo están: As, B, Co, Cr, Mo, Mn, Ni, Se y Zn.
- B) Metales pesados sin función biológica conocida, cuya presencia en determinadas cantidades en seres vivos lleva a disfunciones en el funcionamiento de sus organismos. Resultan altamente tóxicos y presentan la propiedad de acumularse en los organismos vivos. Son, principalmente: Cd, Hg, Pb, Cu, Ni, Sb, Bi.

La toxicidad de los metales pesados está relacionada con su acción directa sobre los seres vivos, a través del bloqueo de las actividades biológicas, causando daños irreversibles en los diferentes organismos. El bloqueo de canales, la reacción de los cationes metálicos con sitios aniónicos de la pared de la membrana, o la capacidad de los metales pesados de atravesar las membranas celulares claramente constituyen un factor crítico en muchas de sus acciones tóxicas. Además, la transferencia de los metales a través de la membrana también pueden estar implicados en su absorción, distribución en el cuerpo, y la excreción, y por lo tanto la transferencia a través de la membrana ayuda a determinar la toxicocinética de metal. Debido a su alta afinidad por las proteínas y muchas otras moléculas biológicas, los metales pesados no existen en los sistemas biológicos en una forma libre o independiente.

Para que los metales pesados puedan ejercer su toxicidad sobre un ser vivo, deben encontrarse disponibles para ser captados por éste, es decir que el metal debe estar biodisponible. El concepto de biodisponibilidad se encuentra íntimamente relacionado con las condiciones fisicoquímicas del ambiente, que determinan la especiación y por lo tanto la concentración de metal libre y lábil. Por ello es fundamental cuando se pretende determinar el grado de contaminación por metales pesados de un ambiente, conocer su biodisponibilidad.

El contenido de metales pesados en suelos debería ser únicamente función de la composición del material original y de los procesos edafogénicos que dan lugar al suelo. Sin embargo, la actividad humana incrementa el contenido de estos metales en el suelo en cantidades considerables, siendo ésta, sin dudas, la causa más frecuente de las concentraciones tóxicas. Como resultado, se emiten grandes cantidades de partículas que, después de un cierto tiempo de permanencia en la atmósfera, precipitan en los suelos lejos del lugar donde han sido vertidas⁴.

La rápida expansión de la industria y el incremento de las actividades domésticas han dado lugar a un aumento considerable de la cantidad de residuos emitida al medio ambiente. Plantas de aguas residuales municipales e industriales generan millones de toneladas de lodos residuales que requieren costos y esfuerzos⁵. Las principales fuentes de contaminación ambiental con metales pesados son los residuos procedentes de los vertidos industriales, actividades mineras, aplicación de plaguicidas y también del tráfico rodado.

El suelo acumula y concentra los metales pesados, debido a su capacidad de retención, sobre todo en las capas superficiales. De hecho, la acumulación de los metales pesados tiene lugar en la parte biológicamente más activa del suelo, de modo que los metales pueden ser fácilmente accesibles para los cultivos⁶. Las reacciones químicas, que tienen lugar en el suelo, controlan el movimiento de los metales dentro del suelo y su absorción por las plantas.

I.1.2.1. Cadmio

El cadmio (grupo IIB de la tabla periódica de elementos) es un metal pesado que presenta un riesgo grave para la salud humana. El cadmio se encuentra normalmente en los minerales, junto con el zinc, cobre y plomo. Por lo tanto la actividad volcánica es una razón natural para un aumento temporal de la concentración de cadmio en el medio ambiente. El cadmio se utiliza ampliamente en la industria de procesos, por ejemplo: como un agente contra la corrosión, como agente estabilizador en productos de PVC, como un pigmento de color, un absorbente de neutrones en las centrales nucleares, y en la fabricación de baterías níquel-cadmio. Fertilizantes de fosfato también muestran una carga grande de cadmio. Aunque algunos productos que contienen cadmio se puede reciclar, una parte importante de la contaminación por cadmio general es causada por el vertimiento y la incineración los residuos de cadmio contaminados. Las emisiones totales mundiales de las cantidades de cadmio son de 7000 t/año. El cadmio es un xenobiótico ubicuo y de comprobada toxicidad para el hombre y los ecosistemas, su alta permanencia en el medio ambiente y sus innumerables usos lo hacen un elemento de toxicidad similar o mayor que la del plomo para el medio ambiente.³

I.1.2.1.1. Efectos sobre la salud.

Exposición Aguda.- Síntomas parecidos a la gripe, debilidad, fiebre, dolor de cabeza, escalofríos, sudoración y dolor muscular. El edema agudo de pulmón generalmente es desarrollado dentro de las 24 horas alcanzando un máximo de tres días. Si la muerte por asfixia no se produce, los síntomas pueden resolverse en una semana.³

Exposición Crónica - La consecuencia más grave es el cáncer (pulmón y próstata). El primer efecto observado es generalmente daño renal crónico, que se manifiesta por la excreción en exceso de proteínas (de bajo peso molecular) en la orina. También se cree que causa enfisema pulmonar y enfermedad de los huesos (osteomalacia y la osteoporosis). El cadmio

también puede provocar anemia, decoloración de los dientes (Cd formas CdS) y la pérdida de olfato (anosmia).³

I.1.2.1.2. Persistencia del Cadmio

El tiempo de permanencia del cadmio en suelos es de hasta 300 años y el 90% permanece sin transformarse. El cadmio llega al suelo de los terrenos agrícolas por deposición aérea (41%), con los fertilizantes fosfatados (54%), por aplicación de abono de estiércol (5%) y, en el Perú frecuentemente por efluentes que contienen residuos líquidos y sólidos de plantas hidrometalúrgicas de cadmio.

La presencia casi ubicua de algunos metales contaminantes, especialmente el cadmio y el plomo en el medio ambiente, facilita su entrada en la cadena alimentaria, por lo tanto aumentando el peligro de la salud humana y animal.⁴

I.1.2.2. Plomo

El plomo está presente naturalmente en la corteza de la tierra en pequeñas concentraciones, pero durante siglos se ha extraído y difundido en todo el entorno, desde donde gradualmente se ha ido incorporando en el tejido estructural de las plantas, los animales y los seres humanos⁷

El plomo es un metal pesado que no juega ningún papel en la fisiología humana, por lo que el nivel plasmático ideal debería ser cero. En la actualidad es prácticamente imposible encontrar alguna persona en la que no se detecten niveles de plomo en sangre⁸.

La evidencia del uso de plomo se remonta a casi 6000 años, y síntomas de saturnismo fueron reconocidos por los médicos egipcios, griegos y romanos. Por ejemplo, en 370 Bc Hipócrates describió un ataque severo de cólico en un hombre

extractor de metales, y Plinio reportó casos de envenenamiento por plomo entre los años 23 y 79 AD. Incluso la caída del Imperio Romano se ha atribuido a la intoxicación crónica por plomo. En la historia más reciente, en 1831 Thackrah asoció el envenenamiento por plomo con "la enfermedad del minero", descrito por primera vez por Paracelso en el siglo XVI y apoyada posteriormente por un estudio contemporáneo de la mala salud de los mineros en Derbyshire en 1857. Si bien los casos de intoxicación directa industrial han sido en gran parte controlados, el grado de contaminación por plomo en todo el mundo ha aumentado enormemente en los últimos 60 años. A nivel mundial, aproximadamente 4,5 millones de toneladas de plomo refinado se consumen cada año. Se ha encontrado que el aire urbano contiene 20 000 veces más plomo desde el comienzo de época de la moderna tecnología. La contaminación por plomo no se limita al entorno urbano, los estudios han demostrado que la contaminación con plomo de los hielos polares y remotas aguas oceánicas también han aumentado más de 400 veces. El grado de contaminación por plomo es tan alto que la media occidental ha mostrado una carga corporal total de plomo de 500-1000 veces mayor que el nivel "natural" de fondo encontrados por el hombre pretecnológico. Cabe señalar, sin embargo, que un estudio ha concluido que los niveles de plomo en el medio ambiente (y humano) se han reducido desde finales de 1960⁸.

I.1.2.2.1. Fuentes de exposición al plomo

La exposición ambiental al plomo es un problema detectado hace décadas, principalmente en sectores urbanos o rurales cercanos a fundiciones o mineras, con contaminación geológica del suelo o agua, en ciudades con alta contaminación por combustión de gasolina con aditivos de plomo, entre otros. La exposición ocupacional al plomo se produce en actividades de minería, fundiciones, fabricación y empleo de pinturas, baterías, tuberías, plaguicidas, envases con soldaduras de plomo, así como en la industria del cable, del plástico, vajillas, cerámicas, del vidrio y del cristal. La exposición doméstica se produce por la ingestión de pinturas con aditivos de plomo, el empleo de cañerías con plomo o por ingesta de

alimentos ácidos (jugos de frutas y vegetales) que liberan dióxido de plomo de los esmaltes de recipientes de cerámica. Los cigarrillos, juguetes para niños, loncheras de vinilo y joyería son otras fuentes de exposición⁹.

La dieta es una importante fuente de exposición al plomo. Un adulto sano no expuesto al plomo ingiere diariamente de 0.3 a 0.5 mg de este metal, el 80% del mismo es eliminado por el riñón. Si la ingesta es superior a 0.6 mg/día, el plomo se acumula y puede provocar una intoxicación. Por consiguiente los contenidos máximos deben de ser lo más bajos posibles¹⁰.

En áreas rurales, los niveles de plomo en el aire son del orden de 0.1 $\mu\text{g Pb/m}^3$ y ocasionalmente pueden ser muchos mayores. Es el uso de plomo como aditivo antidetonante en las gasolinas lo que más ha contribuido a la acumulación de este metal en el medio ambiente. El plomo procedente de las gasolinas supone el 76% de las emisiones de este metal a la atmósfera¹⁰.

I.1.2.2.2. Toxicocinética

Aunque el plomo no suele producir intoxicaciones agudas, su acumulación en el organismo hace que la exposición a dosis bajas a largo plazo, en el medio laboral o a través del aire, agua o alimentos, dé lugar a la expresión de una toxicidad crónica. Partiendo de que la exposición a una cierta concentración de plomo es inevitable, se considera que la concentración sanguínea en la población no especialmente expuesta, es de 10 $\mu\text{g/dL}$ como máximo, y que el nivel a partir del cual hay que tomar medidas en los niños es de 10-14 $\mu\text{g/dL}$ ⁹.

El plomo puede penetrar en el organismo por tres vías: respiratoria, digestiva y cutánea, siendo esta última de escasa entidad. El plomo que atraviesa la piel pasa a través de los folículos pilosos y glándulas sebáceas y sudoríparas directamente al torrente sanguíneo. En la especie humana la absorción de plomo por vía inhalatoria es mínima en comparación con la vía digestiva. En el caso de penetrar por vía respiratoria se combina con

proteínas o con el CO_2 espirado, formándose PbCO_3 soluble. Por vía respiratoria, la más importante en el medio laboral, se llega a absorber el 40% del plomo, parte de este plomo se fija a la saliva y se traga. Respecto a la absorción digestiva, mientras los adultos absorben el 10%, los niños absorben hasta el 50% del Pb ingerido¹⁰.

Tras ser absorbido, el plomo en el organismo sigue un modelo tricompartmental:

- ✓ El sanguíneo (el 2% del contenido total, cuya vida media es de 36 ± 5 días)
- ✓ El de los tejidos blandos (cuya vida media es algo más prolongada)
- ✓ El óseo (que representa el 90% del contenido total con una vida entre 10 y 28 años)

El plomo circula unido en un 95-99 % transportado por los hematíes, unido a la Hb y otros compuestos. Se distribuye desigualmente en los tejidos; cerca del 10 % del plomo es almacenado en los tejidos blando, conteniendo el tejido oseo el restante 90 %. En el hueso el plomo es incorporado a los cristales de hidroxapatita, de los cuales puede ser utilizado lentamente. Si las concentraciones de plomo en sangre son elevadas, el almacenamiento en huesos se ve favorecido, pudiendo acumularse un 94 % del plomo absorbido.

Se excreta fundamentalmente por orina(80 %) y de forma secundaria por heces, saliva y faneras. En el caso de baja exposición al plomo, existe un equilibrio entre el aporte del toxico y la eliminacion. Pero pasado un cierto nivel, comienza a acumularse. Este nivel depende no solo del grado de exposición, sino tambien de la edad y de la integridad de algunos organos como el hígado y el riñón.

La semivida del plomo circulante es de unos 25 días, la del plomo de los tejidos blandos de unos 40 días y la del plomo depositado en los huesos

puede ser hasta de 30 años. Por ello el plomo en el hueso puede ser utilizado para describir, en el tiempo, el contenido corporal del mismo¹⁰.

I.1.2.2.3. Síntomas de toxicidad por plomo.

Los síntomas clásicos de la toxicidad del plomo por lo general se correlacionan con las concentraciones de plomo en sangre, de 25-50 $\mu\text{g/dL}$ en niños y 40 a 60 $\mu\text{g/dL}$ en adultos. La (Tabla 1) describe los efectos clínicos a la exposición al plomo en niños y adultos. Los síntomas gastrointestinales son muy comunes en la toxicidad del plomo, pero puede ser engañoso en ausencia de una exposición sospechosa. Cólicos y estreñimiento son los síntomas más comunes y pueden ser atribuibles a la disminución de la liberación de acetilcolina preganglionar y a la inhibición Na^+ , K^+ -ATPasa intestinal resultando en anomalías del flujo de agua. Además se presenta dolor de cabeza, agitación y disminución de la actividad de los cambios de estupor y en intoxicaciones severas, convulsiones. Los adultos expuestos al plomo presentan los mismos tipos de síntomas neurológicos que los niños, sólo que a niveles más altos de plomo en sangre¹¹.

Los signos característicos de la toxicidad crónica por plomo disminuyen la conducción nerviosa, lo que resulta en la neuropatía periférica y debilidad del extensor del antebrazo, provocando caída de la muñeca.

La neuropatía periférica es el efecto más comúnmente reportado a la exposición ocupacional al plomo y puede ser mal diagnosticada como síndrome de túnel carpiano. Esta neuropatía es más común en adultos que en niños y se cree que la causa es la destrucción de células de Schwann, seguido por desmielinización segmentaria y degeneración axonal. Debido a su afinidad por varios grupos funcionales, particularmente grupos sulfhidrilos, el plomo inhibe tres enzimas importantes en la síntesis del grupo hemo: ácido δ -aminolevulínico, coproporfirinógeno y ferroquelatasa. La intoxicación por plomo se caracteriza por una anemia

microcítica o normocítica hipocrómica con reticulocitosis que pueden estar asociados a bajos niveles de hierro.

Tabla 1 Presentación clínica de la toxicidad por plomo basada en los niveles de plomo sanguíneos ¹¹.

Level of Toxicity	Blood Lead Concentration (µg/dL)	Clinical Presentation ^a	
		Children	Adults
Asymptomatic or impaired abilities	<10	Decreased learning and memory, decreased verbal ability, impaired fine motor coordination, signs of ADHD or hyperactivity, lower IQ, impaired speech and hearing	... ^b
Mild	10-39	Myalgia or parasthesia, irritability, mild fatigue/lethargy, occasional abdominal discomfort	...
Moderate	>40-50	Arthralgia, difficulty concentrating, general fatigue, headache, muscular exhaustibility, tremor, weight loss, vomiting, constipation, diffuse abdominal pain	Fatigue, somnolence, moodiness, lessened leisure interest, impaired psychometrics, chronic hypertensive effects, reproductive effects
Severe	>70-80	Lead lines (blueish black appearance on gingival tissue), colic (intermittent, severe cramps), parasthesia or paralysis, encephalopathy	Headache, memory loss, decreased libido, insomnia, metallic taste, abdominal pain, constipation, myalgia/arthralgia, nephropathy
Severe, acute	>100-150	Encephalopathy, seizures, anemia, nephropathy	Encephalopathy, various CNS effects, anemia, nephropathy

^aADHD = attention-deficit/hyperactivity disorder, IQ = intelligence quotient, CNS = central nervous system.
^bNot applicable.

La anemia inducida por plomo se hace evidente cuando el nivel de plomo en la sangre sigue siendo significativamente elevado durante períodos prolongados de tiempo. La exposición crónica disminuye tanto la biosíntesis del hemo y la supervivencia de los glóbulos rojos. Exposiciones agudas a altos niveles de plomo también puede causar anemia hemolítica¹¹.

1.1.3. PRINCIPALES CONTAMINANTES EXISTENTES EN EL MEDIO ACUÁTICO

En el medio acuático están presentes numerosos contaminantes que pueden provocar efectos dañinos sobre los organismos que habitan en él. La distribución de dichos contaminantes en el medio acuático está determinada por tres procesos básicos: su acumulación en el sustrato béntico, su distribución en la columna de agua y su captación por parte de los organismos, bien a través de las branquias o del sistema digestivo ¹³. Estos

compuestos, una vez que entran en el interior de los organismos, pueden seguir varias rutas, tales como la acumulación a largo plazo, la producción de efectos tóxicos de forma directa o indirecta tras su biotransformación y la excreción al medio externo. Todos estos efectos pueden tener repercusión sobre células, tejidos, organismos e, incluso, poblaciones ¹²

Los metales pesados están ampliamente difundidos en el medio externo, debido a sus numerosas aplicaciones. Muestran, en general, una alta toxicidad sobre tejido neuronal, hepático y renal, provocada en parte por el daño oxidativo en dichos tejidos debido a la generación de oxirradicales ¹³

Las diferencias específicas en esta toxicidad se deben a las distintas propiedades físico-químicas de los metales dentro de los organismos vivos. A continuación, se presenta una breve descripción de aquellos más importantes.

-La característica típica de la intoxicación por cobre es la necrosis hepática. Sus aplicaciones prácticas son variadas e incluyen desde su uso en la industria eléctrica y del automóvil hasta su empleo como fungicida y algicida, estimándose la producción global anual en unos 13,6 millones de Tm (ATSDR, 1990).

-La presencia del cadmio en el medio ambiente se debe, principalmente, a actividades de galvanización y a su uso en pinturas y en baterías. Es tóxico para el hígado, el riñón y el sistema nervioso central.

-Las principales aplicaciones del mercurio son la minería (antiguamente se empleaba en la extracción de oro), como fungicida, como componente de ciertos medicamentos y la producción de plásticos. La producción mundial de mercurio está estimada entre 10.000 y 15.000 Tm anuales. Las principales vías de contaminación son a través de la piel, por la dieta y por contacto con vías respiratorias. Afecta sobre todo a los sistemas nervioso, renal y gastrointestinal, pudiendo dar lugar a úlceras y hemorragias.

-Normalmente el plomo se encuentra en el polvo, en cosméticos, algunas pinturas, agua, remedios caseros, y puede provocar, entre otros efectos, disfunciones hematológicas,

gastrointestinales y neurológicas. Los sedimentos de un ecosistema acuático reflejan la calidad de sus aguas ¹⁶. Después de ingresar los metales pesados al ambiente marino a través de fuentes naturales y/o antropogénicas, son distribuidos a través del agua, hacia la biota y sedimentos. ¹⁸

Cuando se desea revisar mejor el ambiente de contaminación por metales pesados en cuerpos de agua marinas ¹⁸, los sedimentos marinos y estuariales son una matriz ambiental que por su origen integra en el tiempo los cambios geoquímicos que ocurren en la columna de agua. Es así que estudios de mediano y largo plazo generan aportes interesantes y antecedentes en la historia de alteración de un área. Las concentraciones de metales pesados en sedimentos generalmente son más altas que las encontradas en el agua, razón por la cual son ampliamente utilizados como indicadores de la contaminación que han sufrido los ecosistemas marinos ¹⁸. Por lo tanto, los metales pesados que son inmovilizados en los sedimentos constituyen un riesgo potencial en la calidad del agua y la biota debido a que pueden ser liberados de nuevo a la fase acuosa ¹⁸

El hábitat y nuestros hábitos alimenticios influyen en la ingesta de metales pesados en los organismos acuáticos. Las especies filtradoras y organismos planctónicos están más expuestos a los metales pesados disueltos en el agua, o asociados a partículas. Los sedimentívoros y la meiofauna por otra parte, captan los metales al ingerir partículas sedimentarias y las aguas asociadas a los poros del sedimento, así como los metales presentes en las bacterias que viven asociadas al sedimento. ²⁰

Se ha reportado que tanto exposiciones a concentraciones altas como bajas de metales pesados puede llevar a la muerte de algunos organismos, cuando la exposición se da por tiempos ²¹. Los efectos subletales de los metales pesados, en una gran variedad de organismos, conducen a cambios en su morfología o histología; fisiología (crecimiento, desarrollo, capacidad de nado, respiración y circulación); bioquímica (química sanguínea, actividades enzimáticas), y endocrinología, conducta y reproducción. Asimismo la degradación de ecosistemas se visto influido con el incremento de metales pesados en sistemas marinos (esteros, lagunas, bahías) produciendo mortandad principalmente en los estadios larvales y juveniles de aquellas especies que tienen la propiedad de ser

organismos filtradores ¹⁸. Según reportes ²¹ resulta difícil establecer la concentración de metales que podría considerarse normal, o establecer que concentración de elementos traza está dentro de los requerimientos de los organismos. Se ha considerado que la costa chilena presentaría naturalmente, concentraciones relativamente más altas de algunos metales.

El cobre es un elemento esencial que es eficientemente regulado a bajas concentraciones, pero es rápidamente tóxico para organismos acuáticos, cuando aumenta la concentración en el ambiente. La toxicidad acuática debida al cobre está bien estudiada, y hay evidencia experimental de que un considerable número de especies son sensibles a concentraciones disueltas tan bajas como 1 – 10 µg/L. Este elemento es abundante en el medio ambiente y esencial para el crecimiento normal y metabolismo de todos los organismos vivos. Las descargas de cobre en la biosfera global son debidas principalmente a actividades humanas, especialmente minería, producción, refinería y el tratamiento y reciclado de productos industriales y desperdicios. Algunos compuestos, especialmente sulfato de cobre, también contribuyen al aumento de este elemento en el medio ambiente debido a que es usado intensamente en áreas geográficas determinadas para el control de especies de mosquitos de plantas acuáticas e invertebrados, enfermedades de plantas terrestres y coparasitos de peces y animales de consumo humano ²²

Los compuestos de cobre son altamente usados como plaguicidas en el control de algas y macrófitos. También, son usados en agricultura, en productos veterinarios y médicos, en la industria de alimentos y como preservantes de maderas y otros materiales^{23,24}

I.1.4. MACROALGAS

En la actualidad el termino "algas" se usa de forma genérica para referirse a los vegetales acuáticos y da la impresión de definir un conjunto homogéneo de vegetales, pero la verdad comprende unos de los conjuntos más variados, complejos y flexibles (morfológica, bioquímica y fisiológicamente) del reino vegetal. Existen más similitudes (evolutivas, fisiológicas y bioquímicas) entre una especie del genero *Chlorella* (alga unicelular planctónica marina) y una sequoia gigante, que entre una macroalga Clorofita y una

Rodofita que viven en el mismo hábitat, a veces unas sobre otras y a veces difíciles de distinguir morfológicamente.

El término "algas" no existe en Taxonomía y considerar que los organismos que se denominan "algas" son iguales es un error tan común como engañoso, y muy parecido al que sugiere que todas las algas tienen las mismas utilidades agrícolas.

Es así que para entender un grupo de vegetales con fotosíntesis oxigénica, se ha de usar el término "algas" que además precisan de una elevada humedad o una inmersión permanente en agua y que incluye ²⁶:

- A los tres grandes grupos de macroalgas marinas (desde las Feofitas que componen los bosques submarinos de hasta 50 metros de altura, a las Rodofitas y Clorofitas),
- A las microalgas eucariotas, unicelulares o filamentosas, de ambientes marino, dulceacuícola, salobre y terrestre
- A las cianobacterias (procariotas), unicelulares o filamentosas, de ambientes marino, dulceacuícola, salobre y terrestre, incluyendo a las no fijadoras de nitrógeno y a las cianobacterias capaces de fijar nitrógeno, tanto en simbiosis como libres.

Las macroalgas marinas son organismos fotosintéticos que son equiparables con las plantas terrestres tanto por ser los productores de oxígeno y biomasa de los cuales dependen el resto de los seres vivos de la cadena alimenticia en el agua, como por generar una multitud de condiciones donde ellos habitan, tales como servir como sustrato o preparar el sustrato y microcondiciones donde otros seres vivos se adhieren o encuentran refugio. Además de su importancia como alimento, y multitud de productos que se obtienen de ellas, forman parte importante del paisaje acuático.

El grupo de macroalgas está formado por una gran diversidad de especies que han sido tradicionalmente distinguidas por su color: las algas verdes, pardas y rojas.²⁷

Adicionalmente, los conjuntos de macroalgas a menudo responden a cambios en condiciones del ambiente funcionando entonces como indicadores de otros procesos en

desarrollo. La respuesta puede ser directa (ej. enriquecimiento de nutrientes por fugas en la agricultura); si bien respuestas indirectas, como la desaparición dramática de la cobertura de algas debido a la sobrepesca o la pérdida de especies clave, también han sido bien documentadas. Poco se sabe sobre cómo exactamente aportan las macroalgas a los ecosistemas de Galápagos; su contribución es, además, amplia y variada, talvez debido a las múltiples zonas biogeográficas en el Archipiélago y su mosaico faunístico.

I.1.4.1. Divisiones de macroalgas

Chlorophyta. Las algas verdes, o Chlorophyta, están representadas primariamente en Galápagos por unos cuantos géneros que están, ya sea ampliamente distribuidos en los trópicos o son clasificados como cosmopolitas (ej. *Enteromorpha* spp.). El endemismo (8 %) de este grupo ha decrecido considerablemente a medida que se ha encontrado que las distribuciones de especies se extienden a lo largo de las costas del Perú, el Ecuador continental y sus alrededores. Se nota con interés la falta de géneros particulares que son comunes en otras partes con costas someras cálidas templadas a tropicales. De ellos, los géneros que aún no han sido observados en Galápagos incluyen: *Avrainvillea*, *Boodlea*, *Dictyosphaeria*, *Halimeda*, *Microdictyon*, *Neomeris*, *Siphonocladus*, *Udotea* y *Valonia*.

Heterokontophyta. Las algas pardas, o Heterokontophyta, conforman un grupo de particular interés ecológico e importancia en las aguas de Galápagos. No sólo es marcadamente alto el nivel de endemismo (43 %), sino que está esencialmente concentrado en dos de las once familias (Dictyotaceae, orden: Dictyotales y Sargassaceae, orden: Fucales). Una sola especie de 'kelp' (*Eisenia galapagensis*, familia: Alariaceae, orden: Laminariales) se conoce en la RMG; es endémica. Heterokonfitas grandes en el mundo entero han demostrado funcionar como microhábitats y proveer indicadores químicos para el establecimiento de larvas de peces e invertebrados, por lo que podría esperarse que jueguen también un rol clave en los ecosistemas marinos de Galápagos.

Rhodophyta. Las algas rojas, o Rhodophyta, constituyen el grupo más diverso de macroalgas en Galápagos, y están representadas por más de 250 taxones. A esto

se añade un 30 % de endemismo entre las especies y taxones inferiores, y el descubrimiento de dos géneros endémicos: *Phycodrina* (Delesseriaceae) y *Drouetia* (Faucheaceae). Otros géneros representados con una gran proporción de especies endémicas son *Laurencia* (Rhodomelaceae), *Lithophyllum* (Corallinaceae), y *Prionitis* (Halymeniaceae). La familia más grande por sobre todas, Corallinaceae, está representada por casi 50 especies calcáreas y es una de las familias que presentan mayores retos para la identificación de especies. Los géneros de Rhodophyta que aún no han sido reportados para Galápagos pero que se esperaba encontrar en base a las condiciones de hábitat incluyen *Bangia*, *Digenea*, *Liagora*, *Lomentaria*, y *Porphyra*.²⁸

1.1.4.2. Usos históricos y actuales

Los arribazones de macroalgas y fanerógamas marinas han sido utilizadas durante siglos como abono verde (o semicompostado) en casi todas las zonas agrícolas costeras y, sobre todo, isleñas. En algunas islas del mar del norte, incluso han constituido la base de la existencia de la agricultura ya que el suelo agrícola lo ha ido (y continúa) fabricando el hombre mezclando arena y limo con las macroalgas de arribazón.

Existen concesiones a ordenes monásticas bretonas de este "fertilizante estratégico" (aporte de nitrógeno, potasio, oligoelementos, materia orgánica, etc.) datadas desde el siglo XII. En Irlanda se cultivaban macroalgas marinas como actividad agrícola complementaria hasta principios del siglo XX, en zonas de amplios intermareales, "plantando hileras de rocas" (sobre las que crecen las grandes macroalgas pardas) separadas la distancia del carro que empleaban para recolectarlas durante la bajamar. Los agricultores portugueses tuvieron desde antiguo muy claras las diferencias agronómicas que generaban las arribazones de macroalgas de las compuestas predominantemente por fanerógamas marinas, a las primeras las denominaban "sargaco" y "molico" a las de menor calidad. No existen patentes del biofertilizante más antiguo: La utilización de cianobacterias fijadoras de nitrógeno simbióticas (*Anabaena azollae*) en el helecho acuático *Azolla*, que

aportaban (y continúan aportando) en vivo como biofertilizante (Nitrógeno) fotosintético al acuicultivo más importante del planeta (arroz) fue un descubrimiento vietnamita que se mantuvo secreto durante muchos siglos.

Tabla 2. Evolución de la gama de productos (históricos, actuales y en experimentación) y las diversas formas de aplicación de microalgas, cianobacterias y macroalgas.

- Como biofertilizante de arrozales, por inoculación con lechos flotantes *Azolla* conteniendo fijación simbiótica de nitrógeno la cianobacteria *Anabaena*.
- Como corrector de suelos ácidos por aplicación de harina de macroalgas rodofitas calcáreas
- Diatomeas (frústulas fosilizadas de diatomeas) y carbonatos cálcico-magnésicos (calcita y aragonita fósil de cocolitoforidos, Chrysophyta, Rhodophyta y Cyanophyta)
- Para la preparación de compost de macroalgas marinas, algunas veces mezclado con residuos agro-forestales.
- Harinas de macroalgas marinas, para hidrosiembras, trasplantes, detoxificación de suelos, activadores de compost
- Como bioestimulantes, de extractos líquidos de macroalgas marinas, de *Spirulina* o de microalgas
- Estructurador de suelos, por aplicación al suelo de microalgas vivas
- Biofertilizante, por inoculación al suelo de cianobacterias fijadoras de nitrógeno no simbiótica

En el año de 1912 se realizó la primera patente de un extracto líquido de macroalgas, fue recién hasta la comercialización del primer extracto en el Reino Unido, MaxicropTM (obtenido por hidrólisis alcalina de *Ascophyllum nodosum*) en la década de los 60 (a los que le siguieron inmediatamente Marinure, SM-3TM, Algea Produkter, etc.), que se inició el desarrollo de un mercado que, a finales del siglo XX, es gracias a los altos precios de los extractos que estos se encuentran en alta expansión y ampliando la gama con extractos líquidos de cianobacterias (*Spirulina*) y aplicaciones de microalgas vivas a la planta y al suelo (Tabla 2)

I.1.4.3. Efectos agronómicos de las algas

Las algas poseen de algunos efectos beneficiosos en cuanto a adición a cultivos agrícolas terrestres ²⁶.

A. – Sobre la planta

- ✓ Es un estimulante de la germinación
- ✓ Promueve la activación del crecimiento y del crecimiento radicular
- ✓ Mayor producción // homogeneidad de frutos
- ✓ Activador de defensas (estimulante de fitoalexinas radiculares)
- ✓ Mayor contenido en clorofila y capacidad fotosintética
- ✓ Mejora la relación raíz/parte aérea de planta //mayor captación de nutrientes
- ✓ Retraso de la senescencia de las hojas
- ✓ Mayor resistencia a la sequía, a la salinidad y al estrés
- ✓ Produce un menor gasto de agua al ser antitranspirantes
- ✓ Antioxidantes

B. – Sobre calidad de fruto, biomasa o semilla

- ✓ Produce la estimulación de la floración y del cuajado del fruto
- ✓ Aumenta el contenido en azúcares del fruto
- ✓ Aumenta el contenido en AGPI en semillas
- ✓ Aumento de perdurabilidad
- ✓ Aumento de calidad del ganado que pasta en pienso tratado con algas

C. – Sobre el suelo

- ✓ Corrige de acidez
- ✓ Corrector de carencias minerales (macro: Ca y K y todos los oligoelementos)
- ✓ Estabilizante de estructura // antierosivo // regenerador-detoxificador de suelos
- ✓ Activador de la microfauna y microorganismos del suelos en especial micorrizas

- ✓ Aporta macronutrientes y micronutriente // Quelante y acomplejante
- ✓ Hidratante (aumento de capacidad de campo)
- ✓ Reductor de la salinidad

D. – Sobre los parásitos y patógenos

- ✓ Vermífugo
- ✓ Repelente de nemátodos y acción nematocida
- ✓ Repelente de hongos de suelo y hongos de planta
- ✓ Repelente de ácaros e insectos
- ✓ Efecto sinérgico con tratamientos pesticidas convencionales

Para justificar el contenido cuali/cuantitativo de los componentes descritos se ha simplificado los efectos agronómicos de las en la Tabla N° 3.

Tabla N°3. Componentes de las algas que explicarían sus efectos agronómicos sobre la planta, el suelo, los frutos y/o los patógenos (independientemente del modo de aplicación: foliar, al suelo, extractos líquidos, abono verde, algas vivas, etc.)

Polisacáridos matriciales (alginatos, carragenatos, agar, ulvanos, mucopolisacáridos, y sus oligosacáridos)
Polisacáridos de reserva (manitol, fucoïdan, laminarano, almidón florideo), y de pared (celulosa y hemicelulosa)
Macronutrientes: Nitrógeno (aminoácidos) , potasio, calcio, magnesio, fósforo
Oligoelementos y grado de quelatación
Bioantioxidantes y activadores (polifenoles, xantofilas, carotenoides, enzimas)
Fitohormonas y reguladores del crecimiento (citoquininas, oligosacáridos, betaínas)
Biotoxinas, inhibidores y repelentes (compuestos aromáticos y terpenoides halogenados con actividad anti-fúngico,- bacteriano, -insectos,- ácaros, -nemátodos)

I.1.5 BIOINDICADORES

El concepto de organismo indicador se refiere a especies seleccionadas por su sensibilidad o tolerancia (normalmente es la sensibilidad) a varios parámetros. Usualmente los biólogos emplean bioindicadores de contaminación debido a su especificidad y fácil monitoreo. Se define a los organismos indicadores como la presencia de una especie en particular, que demuestra la existencia de ciertas condiciones en el medio, mientras que su ausencia es la consecuencia de la alteración de tales condiciones.

La degradación de los recursos acuáticos ha sido motivo de preocupación del hombre en las últimas décadas. Los primeros esfuerzos por determinar el daño ecológico causado por los residuos domésticos e industriales en las corrientes de agua fueron realizados en 1909, creando de esta manera las bases del sistema saprobio, ampliamente utilizado en Alemania y algunos países europeos. No fue hasta mediados de los años 50 cuando comenzaron a utilizarse diferentes metodologías de evaluación de calidad del agua mediante el uso de los indicadores biológicos. En la década de los 50 y principios de los 60 comienza a discutirse el concepto de diversidad de especies basado en índices matemáticos derivados fundamentalmente de la teoría de la información.

En la década de los años 80 y en la de los 90 comienza a generalizarse el uso de estos índices y a proponerse otros nuevos o modificaciones de los existentes. En 1991 se introduce el concepto de “Índice de integridad biológica” IBI, el cual es una herramienta multiparamétrica para la evaluación de las corrientes basadas en la comunidad de peces.²⁹ En 1995 en Maryland USA se desarrolla métodos rápidos de evaluación del agua usando los macro invertebrados acuáticos como bioindicadores. Tanto este método como el del Reino Unido valoran las condiciones del hábitat y predicen la fauna esperada en un determinado sitio.²⁹

Las ventajas del uso de bioindicadores como herramienta para determinar la calidad del agua e implementar acciones sobre la recuperación son variadas:

- La colecta y registro de información biológica puede realizarse por personas ajenas a la biología, ya que existen manuales que señalan métodos establecidos.
- Las comunidades biológicas reflejan las condiciones del sistema (física, química, biológica y ecológica)
- El biomonitoreo permanente de las comunidades resulta ser económico comparado con los análisis fisicoquímicos.
- La información resultante puede expresarse por medio de Índices Bióticos que expresan la calidad del agua mediante escalas numéricas.

I.1.6 VOLTAMPEROMETRÍA

Voltamperometría y Polarografía son dos de métodos analíticos basados en la respuesta *corriente-potencial* en celdas electrolíticas. La señal analítica es la corriente, normalmente corriente de Faraday, la cual fluye en la celda durante la reacción del analito en el electrodo de trabajo. El analito puede ser un catión, anión o molécula. El fundador de estos métodos, Jaroslav Heyroský (1890-1967 premio Nobel en Química-1959) introdujo el electrodo de gota de mercurio como electrodo de trabajo. El electrodo consiste en un capilar de vidrio de paredes gruesas del cual las gotas de mercurio caen en la solución de la muestra bajo la presión de una columna de mercurio, además introdujo el término de polarografía.

El termino voltamperometría resulta de volt-am(perios)-metry y no suele ser confundido con voltametría (con una sola m) el cual es descrito como una valoración potenciométrica con corriente controlada. La voltamperometría incluye todos los métodos en el cual la medición de potencial de la corriente están hechos en un electrodo fijo y estacionario. Esto incluye el electrodo de gota colgante de mercurio (HMDE), el electrodo de capa fina de mercurio (TMFE), electrodo de glassy carbón (GCE) y electrodos de pasta de carbón (CPE). Los electrodos de trabajo hechos de metales nobles (oro, platino) son usados menos frecuentemente ³⁰.

I.1.6.1 Instrumentación en voltamperometría

Un sistema estándar voltamperométrico consta de una fuente de voltaje, un porta electrodos con los electrodos y la celda electroquímica, y una unidad de registro de la corriente ³¹. Aunque los primeros métodos voltamétricos hacían uso de sólo dos electrodos, en la actualidad la voltamperometría moderna hace uso de tres electrodos sumergidos en una solución que contiene analito y un exceso de un electrolito de soporte ³².

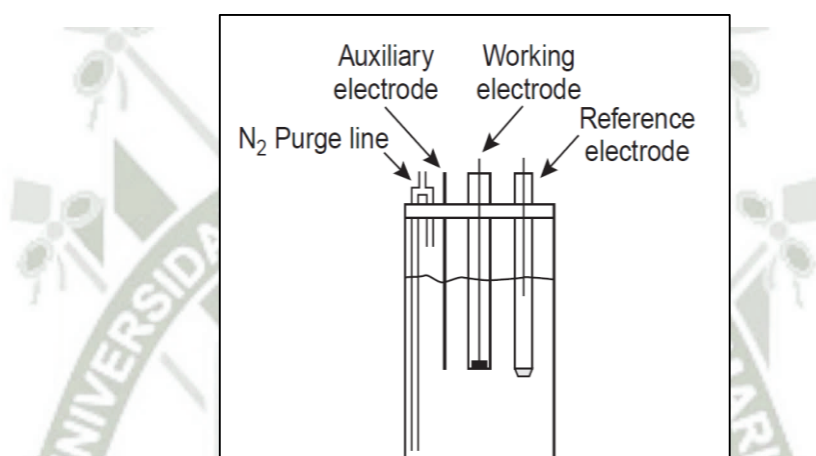
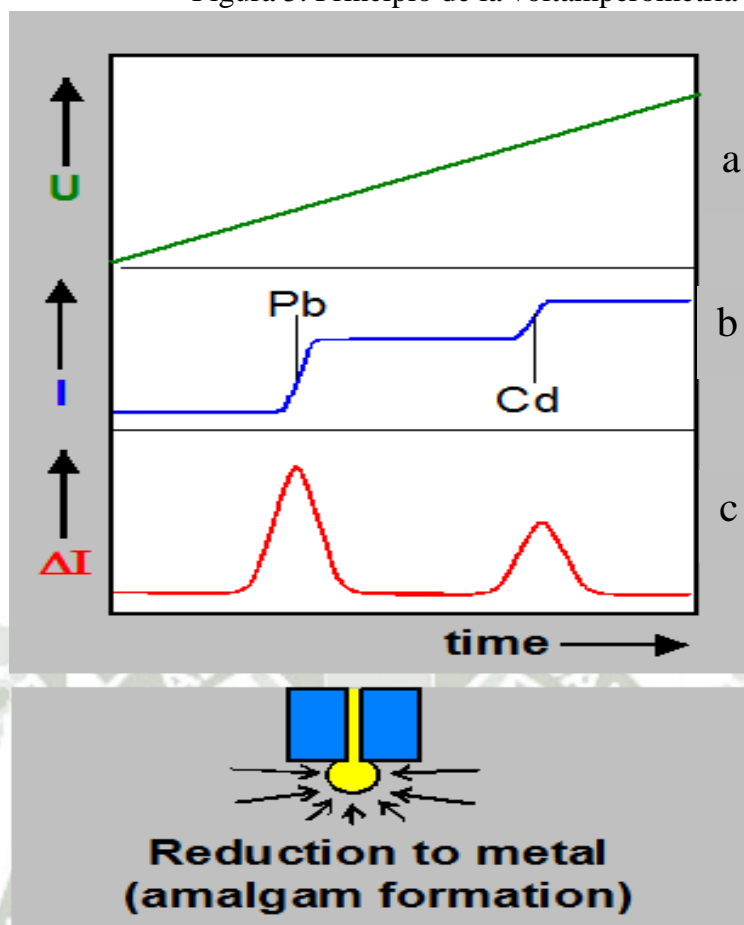


Fig. 4 Celda electroquímica típica en voltamperometría.

- El WE electrodo de trabajo, el cual es el más importante del sistema electroquímico, su potencial varía de manera lineal con el tiempo, Existen dos tipos el MME (electrodo multimodo) que incluye todos los tipos de electrodos de mercurio (DME, SMDE, HMDE) y el RDE para aplicaciones especiales.
- El electrodo de referencia (RE): que ofrece un potencial estable. Los potenciales en el WE se aplican con respecto al potencial de referencia constante. Hoy en día se utiliza principalmente sistemas de Ag/AgCl.
- El tercer electrodo es el electrodo auxiliar (AE): La corriente fluye entre el trabajo y el electrodo auxiliar. Existen dos tipos disponibles: Platino (Pt) y Carbón vítreo (GC) ^{30,31}.

I.1.6.2 Principio de la Voltamperometría

Figura 5. Principio de la voltamperometría



La voltamperometría se basa (Figura 5) en la aplicación de una rampa de voltaje (a), al alcanzarse el potencial de reducción del metal este se reduce se disuelve en el mercurio del electrodo (b), esta reacción produce una corriente, que es medida (c). La corriente fluye cuando la sustancia es oxidada o reducida en el electrodo. Sin reacción electroquímica no existe corriente ³¹.

I.1.6.3 Métodos Voltamperometricos

Voltamperometría de Barrido Lineal (VBL)

El potencial aplicado (un barrido lineal) varía rápidamente (20-200mV/seg) y toda la corriente es monitorizada directamente. La sensibilidad no es extremadamente alta y algunas distorsiones en el resultado de las ondas pueden ser dificultades para el análisis cuantitativo ³¹.

Voltamperometría Directa Simple (DC)

La voltamperometría DC es la clásica, es la medición voltamperométrica más simple con una limitada sensibilidad. Es principalmente utilizado para la investigación de sistemas reversibles redox ³¹.

Voltamperometría de Onda Cuadrada (SqW)

La voltamperometría de onda cuadrada es principalmente adecuada para procesos reversibles. Es usada particularmente para voltamperometría de stripping sensitiva en el modo HMDE o RDE ³¹.

Voltamperometría Cíclica (CV)

La voltamperometría cíclica es principalmente usada para investigar la reversibilidad del proceso del electrodo y para estudios cinéticos ³¹.

Voltamperometría de Pulso Diferencial (PD)

La voltamperometría de pulso diferencial, es una de las técnicas electroanalíticas que alcanzó una gran popularidad a partir de 1970. Es el modo de medición universal y más frecuentemente usado, es apropiado para sistemas reversibles e irreversibles y ofrece una alta sensibilidad. ³².

Voltamperometría de Redisolución

Una de las más importantes técnicas de voltamperometría cuantitativa es la voltamperometría de redisolución ya que que proporciona los límites de detección más bajos para los metales (10^{-9} - 10^{-12}). Es decir, detecta iones metálicos con una exactitud razonable, en pocos minutos y en un margen de concentración como el antes expresado. Los métodos de redisolución están basados en el siguiente concepto: la sustancia a

determinar se pre-concentra en el electrodo y posteriormente es devuelta a la disolución por un proceso inverso ^{30,31,32}

Gracias a la voltamperometría de redisolución se ha conseguido:

- Preconcentrar sustancias que antes no era posible al ser consideradas no electroactivas.
- Desarrollar métodos impulsionales, de onda cuadrada, voltamperometría de corriente alterna, las cuales permiten aumentar la sensibilidad de las determinaciones, pudiéndose llegar en algunos casos a determinar concentraciones de orden $\mu\text{g/L}$ e incluso pg/mL .

Se compone de tres técnicas relacionadas: anódica, catódica y voltamperometría de adsorción. Ya que la voltamperometría de redisolución anódica ha encontrado la aplicación más amplia, la hemos consideramos con mayor detalle ^{30,31,32}

-Etapa de pre-concentración:

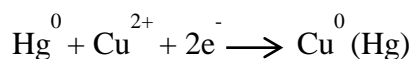
Objetivo: Traspasar el analito de la disolución en que se encuentra al electrodo, es decir, a la gota de mercurio.

Distintos aspectos influyen en esta primera etapa:

La sustancia, el analito, puede llegar al electrodo de tres maneras distintas: por migración (debido a atracciones electroestáticas), por difusión (debido al gradiente de concentración) y por convección (fuerzas mecánicas (agitación)).

La temperatura, debe estar controlada, ya que, el coeficiente de difusión depende de ella.

El tiempo, a medida que aumentamos el tiempo, la cantidad de analito depositado en el electrodo aumenta. Por otro lado la intensidad de corriente disminuye con el tiempo. Para que el proceso mantenga su intensidad prácticamente constante tendremos que utilizar volúmenes grandes de disolución, superficies pequeñas de electrodo y tiempos de electrodeposición cortos ^{30,31,32}



Pre-concentración mediante electrolisis.

- Etapa de reposo:

En el proceso de reposo se detiene la agitación y se mantiene el potencial aplicado. Necesitamos que el analito y el electrodo se homogenicen.

-Etapa de medida:

Objetivo: Obtener desde el punto de vista analítico información acerca del depósito que tenemos.

Existen distintas técnicas y la más común es:

-Barrido lineal de potencial con respecto al tiempo: Consiste en aplicar al electrodo un potencial cuya variación es una función lineal en el tiempo. En redisolución anódica el barrido lineal consistiría en que el potencial de electrodo se hace variar linealmente hacia potenciales más positivos, registrando la intensidad de la corriente.

En redisolución anódica, a medida que aumenta el potencial se produce un aumento de la intensidad, ya que, aumenta la velocidad de reacción.

En redisolución catódica ocurre lo contrario el potencial varía hacia valores más negativos.

A partir de un determinado valor de potencial, la intensidad disminuye al igual que la concentración de sustancia electroactiva^{30,31,32}

I.1.7 PREPARACIÓN DE MUESTRAS PARA ANÁLISIS DE METALES

Los metales contenidos en muestras son determinados por una gran variedad de métodos analíticos. Sin embargo, estos metales presentes en las muestras pueden encontrarse en pequeñas hechas que hace necesario un pretratamiento de la muestra.

La preparación del material para la determinación del metal sirve por varios propósitos, los cuales varían de acuerdo al tipo de muestra y de las demandas particulares del análisis.

Algunas de las mayores funciones de la preparación de la muestra son:

- ✓ Degradar y solubilizar la matriz para la liberación de los metales para su determinación.
- ✓ Extraer los metales de la matriz en un solvente más apropiado para el método analítico a usar.

- ✓ Concentrar los metales presentes a muy baja concentración para llevarlo a una concentración más apropiada para el análisis.
- ✓ Separar un analito de un grupo de analitos de otras especies que puedan estar interfiriendo en el análisis.
- ✓ Diluir la matriz para que el efecto de la matriz sea constante y medible.
- ✓ Separar diferentes formas químicas del analito para el análisis individual de las especies presentes.³².

Los métodos de digestión deben ser seleccionados de acuerdo al tipo de muestra, el metal a ser determinado y finalmente al método analítico, los más comunes son: digestión húmeda en soluciones ácidas, digestión seca y extracción del analito de la muestra sin destrucción total de la matriz. La calcinación seca es útil para muchas muestras como alimentos o muestras botánicas, debido a la rápida y fácil destrucción de grandes cantidades de materia orgánica húmeda; sin embargo si el analito (metal) está presente en forma volátil por ejemplo metilmercurio la calcinación en seco puede causar la pérdida del analito. Muchas matrices de muestras tanto orgánicas como inorgánicas pueden ser disueltas

Los métodos de digestión deben ser seleccionados de acuerdo al tipo de muestra, el metal a ser determinado y finalmente al método analítico, los más comunes son: digestión húmeda en soluciones ácidas, digestión seca y extracción del analito de la muestra sin destrucción total de la matriz. La calcinación seca es útil para muchas muestras como alimentos o muestras botánicas, debido a la rápida y fácil destrucción de grandes cantidades de materia orgánica húmeda; sin embargo si el analito (metal) está presente en forma volátil por ejemplo metilmercurio la calcinación en seco puede causar la pérdida del analito. Muchas matrices de muestras tanto orgánicas como inorgánicas pueden ser disueltas por calentamiento en una solución oxidante ácida. Otras muestras pueden ser tratadas por extracción de los metales de la matriz. Este método es frecuentemente usado para muestras de aguas, donde un agente quelante puede ser usado para acomplejar el metal de interés, estableciendo su fácil separación de la matriz acuosa³³.

-Digestión asistida por microondas:

Este es un método atractivo, especialmente para muestras pequeñas. Se debe tener extremo cuidado en el uso de vasos cerrado a presión. La aplicabilidad de esta técnica es estrictamente dependiente del tipo de la muestra, los carbohidratos son fácilmente mineralizados con ácido nítrico a 180°C, mientras que las grasas, proteínas y aminoácidos presentan digestiones incompletas debido al relativo bajo potencial de oxidación del ácido nítrico a 200°C, estos materiales requieren la adición de ácido sulfúrico o perclórico con todos los problemas relacionados a sus altas temperaturas y presiones ³³

La digestión de una muestra en un recipiente cerrado en un horno de microondas tiene varias ventajas sobre los métodos de envase abierto. Los contenedores están fabricados con polímeros resistentes a altas temperaturas a menudo policarbonatos o PTFE (politetrafluoroetileno, teflón), y que hace menos probable que contengan contaminantes metálicos que los vasos de vidrio, de cerámica o que los crisoles. El envase sellado elimina la posibilidad de contaminación por polvo en el aire. Los envases sellados, reducen la evaporación a presión, por lo que es necesaria menos solución ácida de digestión. El envase sellado también elimina las pérdidas de las especies metálicas volátiles, que puede ser un problema en la descomposición de la muestra en un contenedor abierto, especialmente en calcinación en seca ³². Una de las limitaciones es el tiempo requerido para el enfriamiento antes de que el envase pueda ser abierto, lo cual puede tomar horas dependiendo del tipo de equipamiento usado. Existen dos diferentes sistemas disponibles para digestión asistida por microondas; Sistema de vaso cerrado a presión y sistema abierto fijo, que funcionan bajo presión atmosférica ³³.

El sistema de digestión asistida por microondas se compone de un horno microondas, un carrusel giratorio con una o varias bombas de digestión de la muestra, y un sistema de ventilación de estos de manera controlada ³².

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

II.1.- CAMPO DE VERIFICACIÓN

II.1.1. UBICACIÓN ESPACIAL:

- ✓ Laboratorio de Investigación de la Universidad Católica de Santa María Pabellón H-202.
- ✓ Litoral marino de la provincia de Arequipa

II.1.2. UNIDADES DE ESTUDIO:

- ✓ Muestras de *agua* de mar provenientes de la ciudad de Mollendo.
- ✓ Muestras de macroalgas de las especies (*Lessonia nigresceus*, *Porphyra Columbina* y *Corallina Officinalis*).

II.1.3. UBICACIÓN TEMPORAL:

- ✓ En el primer mes de trabajo se pretende validar la metodología para la determinación de Pb(II) y Cd(II) en las distintas muestras, además de hacer una comparación entre la técnica voltamétrica y por ICP
- ✓ Una vez validada la metodología se plantea realizar un monitoreo de la concentraciones de Pb(II) y Cd(II) en agua y macroalgas marinas por un periodo de al menos 6 meses.
- ✓ Culminado el monitoreo se recopilará la información y se reportará en un plazo máximo de 1 mes.

II.2. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN

II.2.1. Técnicas

II.2.1.1 Validación del método para determinar Pb(II) y Cd(II)

Evaluación de:

- Linealidad

- Selectividad
- Exactitud
- Precisión
- LDD y LDQ
-

II.2.1.2 Método para la determinación de Pb(II) y Cd(II)

Un volumen de 100 μL de la solución de las muestras preparadas serán transferidos a la celda electroquímica, en la que se depositan 10 mL de buffer Acetato de sodio pH 4.6, la determinación de plomo y cadmio se realizará por voltamperometría de pulso diferencial haciendo uso del método de adición estándar con una solución estándar de plomo 0.5 ppm y cadmio 0.5 ppm.

Los parámetros voltamperométricos del método serán: potencial de deposición: -0.9 V; tiempo de deposición: 30 s; velocidad de barrido: 20 mV/s; amplitud de pulso: 0.05 V, tiempo de pulso: 0.04 s, potencial inicial: -0.8 V, potencial final: 0.1 V. Todas las medidas voltamperométricas serán realizadas por voltametría de redisolución anódica usando una estación voltamperométrica (797 VA Computrace de Metrohm). Que consta de un electrodo de gota colgante de mercurio (HMDE), un electrodo auxiliar de platino y un electrodo de referencia de Ag/AgCl/KCl 3 M.

II.2.1.3 Tratamiento de muestras

Para poder llevar a cabo la validación del método voltamperométrico será necesario establecer el tipo de digestión a usar para las muestras recolectadas, para lo cual se realizará pruebas con la digestión ácida en envase cerrado asistida por microondas.

❖ Digestión ácida en envase cerrado asistida por microondas

Para la determinación de los metales pesados Pb(II) y Cd(II), se secarán las muestras, y luego serán sometidas a pulverización, homogeneización, luego almacenadas hasta su posterior análisis.

Para este método es necesario el uso de un equipo de digestión MARS6 y vasos PTFE con tapa, los que tienen la característica de tener un comportamiento químicamente inerte, con la ventaja de un recipiente cerrado a presión. Estos métodos ofrecen un procedimiento rápido para la disolución o digestión de la muestra, con importantes ventajas sobre los métodos tradicionales de preparación³³

Se procederá como sigue:

Se depositarán 20 mg de muestra en el vaso de digestión, previamente tarado (registrándose el peso) agregándosele 2 mL de ácido nítrico, se introducirá el vaso en el equipo de digestión y se someterán a un ciclo de digestión el cuál usa una potencia que no supera los 600 Watts y temperatura de 200 °C.

Al término de la digestión se esperarán 30 minutos para la apertura de los vasos, traspasándose el contenido a una fiola de 10 mL y enrazándose con agua ultrapura, para su posterior análisis. Todo procedimiento se realizará por triplicado.

II.2.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Una vez obtenidos los cálculos se determinará los siguientes parámetros estadísticos: ³⁴

II.2.2.1. Estadística de medidas repetidas:

A. Promedio:

Valor que representa un conjunto de datos. Señala un centro de los valores, que es la suma de todas las medidas divididas por el número de medidas.

$$\bar{X} = \frac{\sum x}{n}$$

Donde:

Σx : Sumatoria del conjunto de datos.

n: Número de datos.

B. Desviación Estándar (S):

La desviación estándar proporciona una medida de la dispersión de un conjunto de resultados alrededor del valor medio. Se considera como la raíz cuadrada de la varianza.

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x - X)^2}{n - 1}}$$

Donde:

x: Sumatoria del conjunto de datos.

X: Promedio de los datos.

n: Número de datos.

C. Coeficiente de variación (CV):

Es una medida de variabilidad extensamente utilizada, también conocido como la desviación estándar relativa (DER):

$$CV = DER = 100 * \frac{S}{X}$$

Donde:

S: Desviación Estándar

X: Promedio

El CV cuyas unidades se expresan obviamente en tanto por ciento, es un ejemplo de error relativo, es decir una estimación del error dividida por una estimación de valor absoluto de la cantidad medida. Los errores relativos se utilizan con frecuencia al comparar las precisiones de los resultados que tienen diferentes unidades o magnitudes.

II.2.2.2. Pruebas de Significación.

A. Comparación de dos medias experimentales:

Los resultados de un método analítico nuevo se pueden contrastar mediante una comparación con los obtenidos utilizando un segundo método. En este caso tenemos dos medias muestrales X_1 y X_2 . Tomando como hipótesis nula que los dos métodos proporcionen el mismo resultado, es decir $H_0: \mu_1 = \mu_2$, se necesita probar si $(X_1 - X_2)$ difiere significativamente de cero. Para decidir si la diferencia entre dos medias muestrales es significativa, se calcula el estadístico t:

$$t = \frac{(X_1 - X_2)}{s \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

Donde s se calcula a partir de:

$$S^2 = \frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{(n_1 + n_2 - 2)}$$

y tiene $n_1 + n_2 - 2$ grados de libertad.

B. Análisis de Varianza.

En el trabajo analítico se suelen presentar a menudo comparaciones en las que intervienen más de dos medias. El análisis de varianza (ANOVA) es una técnica estadística muy potente que se utiliza para separar y estimar las diferentes causas de variación. Un ANOVA de un factor contrasta la existencia de diferencias significativas entre medias cuando están presentes más de dos muestras.

Las fórmulas utilizadas son:

Tabla 4 Formulas para ANOVA

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Estadístico F
Entre de grupos	K-1	SCE	$\frac{SCE}{K-1} = CME$	$\frac{CME}{CMD} = F$
Dentro de grupos	N-K	SCD	$\frac{SCD}{N-K} = CMD$	
Total	N-1	SCT		

Donde:

N: n° de datos

K: n° de grupos experimentales

Para probar la significación en la relación F se recurre a tablas. Se analiza si el valor calculado para F es menor o mayor que el que se indica en tablas de acuerdo a los grados de libertad. En el primer caso, se concluirá que todos los grupos son iguales, en caso contrario se concluirá que no todos los grupos son iguales, entre algunos o todos existe una diferencia estadística significativa³⁴.

C. Prueba de Especificidad: LDS (Least significant difference)

Si en el análisis de varianza los resultados obtenidos fueran significativos a los diferentes tratamientos, se procederá a averiguar estadísticamente cuál de ellos fue más eficiente o más específico, de no hallarse significancia a la prueba del ANOVA no será necesario realizar ninguna prueba de especificidad.

Esta prueba se recomienda generalmente para datos analíticos, y se calcula con la siguiente expresión:

$$\text{LSD} = S \sqrt{\frac{2}{n}} * t_{h(n-1)}$$

Donde:

S: Promedio de cuadrados dentro de los grupos

n: Numero de datos por grupo

h: Numero de grupos

t: t de tablas

II.2. 3. Materiales y reactivos:

- Estándar de Pb(II) y Cd(II) 1000 ppm Merck suprapur.
- Hidróxido de potasio
- Ácido nítrico suprapur
- Hidróxido de sodio
- Ácido acético
- Ácido sulfúrico
- Ácido clorhídrico
- Balanza analítica
- Material de vidrio
- Micropipetas
- Estación voltamperométrica 797 VA
- Equipo EASYPURE II
- Equipo de digestión MARS 6

II.3 ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN DE DATOS:

- ✓ La parte experimental del presente trabajo se realizó en dos etapas, en la primera se procederá con la validación de la técnica por Voltamperometría para la determinación de Pb(II) y Cd(II) en unidades de muestreo, concluida esta etapa se realizará el muestreo de acuerdo al plan realizado

para evaluar las concentraciones halladas en las muestras de macroalgas tomadas y así poder proponer alguna especie como bioindicadora.

- ✓ Datos excel



CAPÍTULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN

III.1. VALIDAR EL MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE Pb(II) Y Cd(II) EN AGUA Y MACROALGAS MARINAS POR VOLTAMPEROMETRÍA DE REDISOLUCIÓN ANÓDICA

III.1.1. Verificación Operacional de la estación voltamperométrica VA 757

Para iniciar con el trabajo en la estación voltamperométrica debemos de corroborar que este trabaje en condiciones óptimas, las cuales son descritas por el fabricante, a continuación los resultados de este proceso.

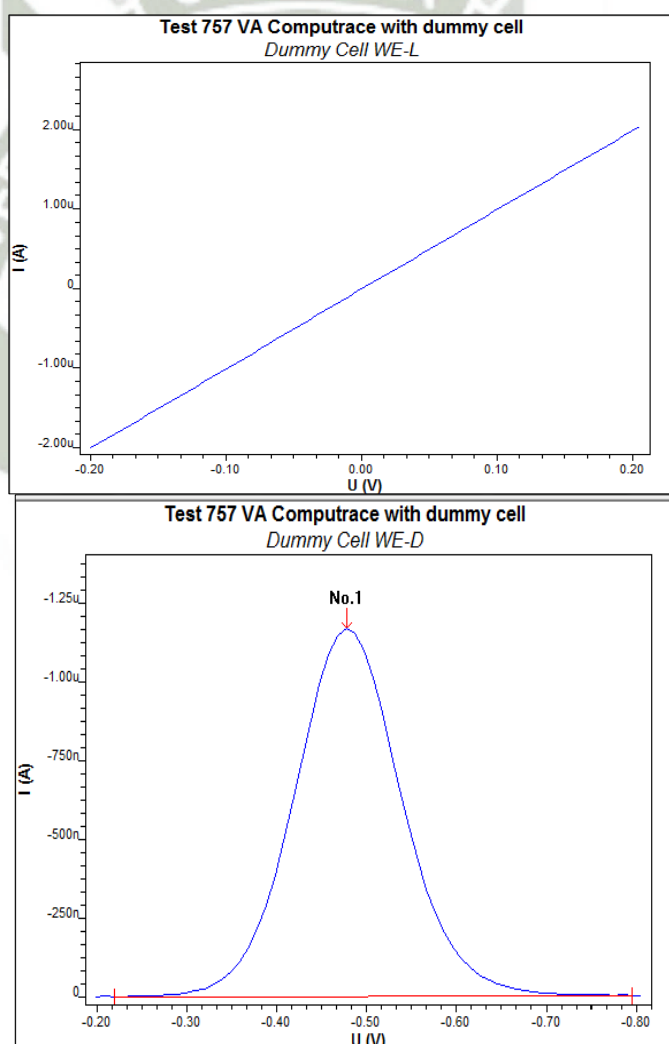


Figura N° III.1 Verificación electrónica de la estación VA 757

De la Figura N° I.1, se rescata la linealidad obtenida de la corriente mínima (- 2 μ A) y la corriente máxima (2 μ A) al aplicar la rampa de voltaje mínima(-200 mV) y la rampa de voltaje máxima (+200 mV); como valores tolerables, para la corriente mínima es de (- 1.6 μ A a -2.4 μ A) y para la corriente máxima (1.6 μ A a 2.4 μ A), y dado los descrito por el fabricante Metrohm, con estos resultados obtenidos se confirma la linealidad para la validación electrónica, por lo que se concluye que el primer paso de verificación del desempeño de la rampa de voltaje es óptimo para la utilización del equipo. Así mismo se observa que al evaluar el pico producido por un cambio de intensidad, este cumple con los requisitos necesarios para la determinar la simetría del pico, habiéndose obtenido el voltaje máximo (- 497 mV) y la corriente máxima (- 2.35 μ A), siendo la tolerancia para el voltaje de (- 450 mV... - 550 mV) y para la corriente de (- 2 μ A... - 4 μ A);

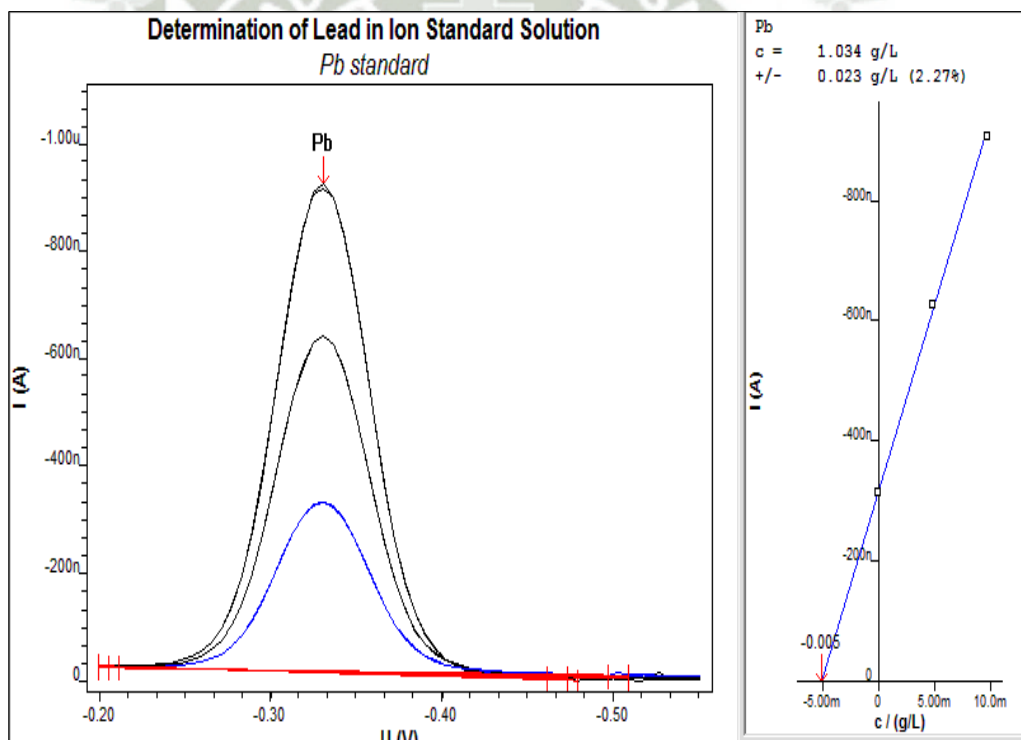


Figura N° III.2 Validación química.

Una vez concluida la comprobación del funcionamiento electrónico del equipo, se inició la validación química, la misma que evalúa la precisión y exactitud de la estación voltamperométrica para un analito real. La figura N° III.2 muestra la gráfica que evidencia lo descrito.

Para la validación química del instrumento, se coloca en la celda: 100 μL de solución estándar de Plomo a 1 g/L, y se trabaja en modo DME, de lo que se obtuvo la Figura No I 2 la cual muestra un aumento en el pico de dicho metal y la concentración final es de 1.034 g/L de plomo, la tolerancia para la concentración final es de (0.95...1.05g/L).

Para obtener estos valores se ha tenido sumo cuidado y precaución en el manejo de los reactivos y materiales, así como la preparación de las soluciones a analizar, al estar la concentración de plomo dentro del rango establecido, se concluye con la validación química, estando el equipo apto para el trabajo de investigación.

III.1.2. Validación del método para la determinación de Cd y Pb por voltamperometría

Una vez que se evaluó el desempeño químico y eléctrico del equipo, se procedió con la validación del método y establecer la confiabilidad en el método para la determinación de las concentraciones de Cd y Pb en macroalgas marinas

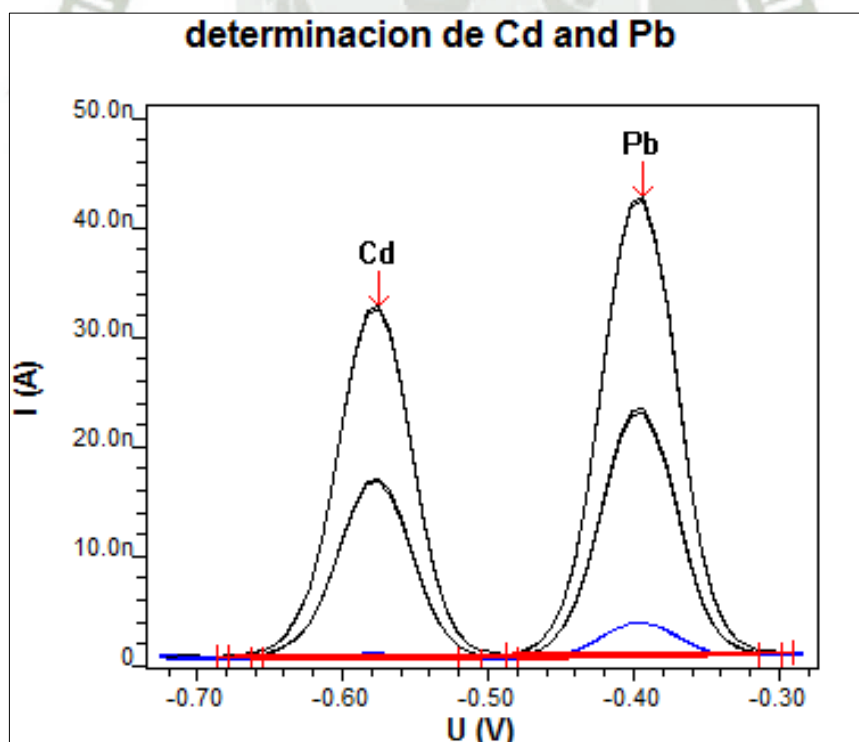


Figura N°III.3 Voltamperograma para Cadmio II y Plomo II

Para la evaluación de los parámetros a validar se escogieron algunos valores voltamétricos necesarios para la determinación de los analitos en el equipo Los que fueron: tiempo de purga: 300 s, potencial inicial: -0.8 V, potencial final: -0.2 V, potencial de deposición: -0.9 V, tiempo de deposición equilibrio: 30/10 s, velocidad de barrido: 20 mV/s, con los cuáles se obtuvieron 2 picos, el del Cadmio a un potencial de -0.6 V y de plomo a -0.4 V, como lo demuestra la Figura N°III.3.

III.1.2.2. Parámetros de validación para la determinación de cadmio II y plomo II

A.-Linealidad:

Para efectuar la revisión del parámetro de linealidad con el que cuenta el método, se estudiaron 6 niveles de concentración, los cuáles fueron trabajados por triplicado.

Tabla N° III.1 Datos para la linealidad para determinación de Plomo

Pb II mg/L	Intensidad I (nA)	Intensidad II (nA)	Intensidad III (nA)	Promedio	S	CV
0.005	4.12	4.23	4.36	4.24	0.12	2.84
0.010	6.46	6.39	6.51	6.45	0.06	0.93
0.015	8.43	8.60	8.52	8.52	0.09	1.00
0.020	11.42	11.47	11.44	11.44	0.03	0.22
0.024	14.05	14.01	14.06	14.04	0.03	0.19
0.029	16.14	16.22	16.18	16.18	0.04	0.25

Fuente: Elaboración propia

Tabla N° III.2 Datos para la linealidad para determinación de Cadmio

Cd II mg/L	Intensidad I (nA)	Intensidad II (nA)	Intensidad III (nA)	Promedio	S	CV
0.002	3.02	3.14	3.08	3.08	0.06	1.95
0.005	4.99	5.16	5.01	5.05	0.09	1.84
0.007	7.15	7.26	7.3	7.24	0.08	1.07
0.01	9.37	9.6	9.81	9.59	0.22	2.29
0.012	12.24	12.3	12.11	12.22	0.10	0.80
0.015	14.39	15.02	14.72	14.71	0.32	2.14

Fuente: Elaboración propia

Con los datos obtenidos para la linealidad, se construyeron las gráficas de calibración, ambos mostrados en la Figura N° III.4

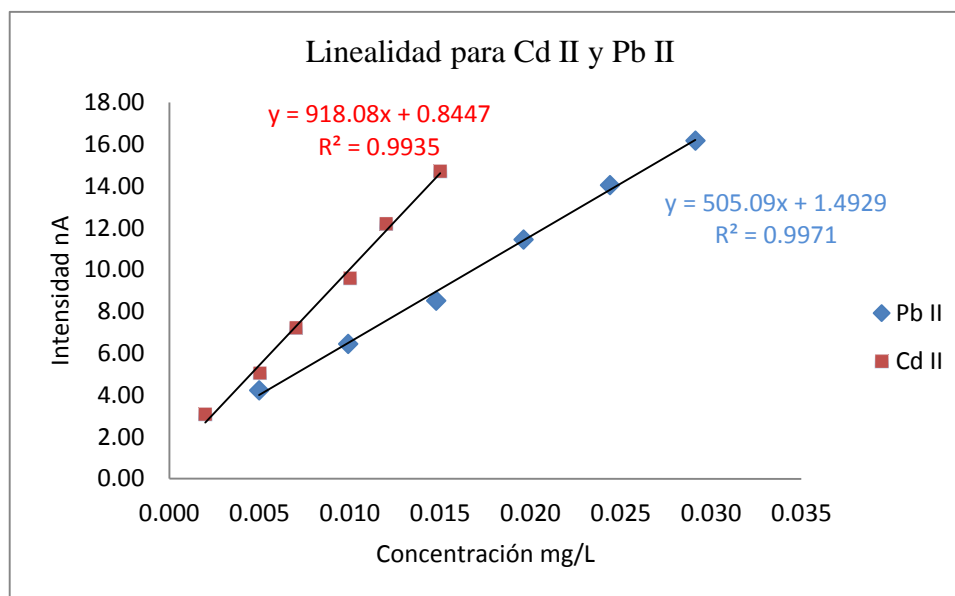


Figura N° III.4 Gráfica para la linealidad del método

En la Figura N° III.4 se observa la proporcionalidad entre concentraciones y respuestas en nA, dando coeficientes de correlación de 0.9935 y 0.9971 para Cadmio y Plomo, respectivamente.

B.- Precisión:

La evaluación de la precisión del método se trabajó en una primera etapa realizando tres experiencias en las mismas condiciones, día y analista y en una segunda etapa, realizando cambio de día de análisis, analista y reactivos.

Tabla N°III.3. Repetibilidad para determinación de Plomo

Pb mg/L	Intensidad I	Intensidad II	Intensidad III	Promedio Int	S	CV	Int. Confianza
0.005	4.12	4.23	4.36	4.24	0.1201	2.84	3.93 4.55
0.010	6.46	6.39	6.51	6.45	0.0603	0.93	6.30 6.61
0.015	8.43	8.60	8.52	8.52	0.0850	1.00	8.30 8.74
0.020	11.42	11.47	11.44	11.44	0.0252	0.22	11.38 11.51
0.024	14.05	14.01	14.06	14.04	0.0265	0.19	13.97 14.11
0.029	16.14	16.22	16.18	16.18	0.0400	0.25	16.08 16.28

Fuente: Elaboración propia

Tabla N°III.4. Precisión Intermedia para determinación de Plomo

Pb mg/L	Intensidad I	Intensidad II	Intensidad III	Intensidad IV	Promedio Int	S	CV	Int. Confianza
0.0050	4.12	4.23	4.47	4.32	4.29	0.15	3.45	3.90 4.67
0.0099	6.46	6.39	6.63	6.53	6.50	0.10	1.58	6.24 6.77
0.0148	8.43	8.60	8.77	8.61	8.60	0.14	1.61	8.25 8.96
0.0196	11.42	11.47	11.72	11.62	11.56	0.14	1.19	11.20 11.91
0.0244	14.05	14.01	14.48	14.33	14.22	0.23	1.59	13.64 14.80
0.0291	16.14	16.22	16.82	16.71	16.47	0.34	2.08	15.59 17.35

Fuente: Elaboración propia

Según los límites dados por la AOAC para la validación de métodos, para una concentración menor a 1 ppm el valor de CV aceptable es de 8 % para repetibilidad y el doble para precisión intermedia, siendo los datos mostrados en la Tabla N° III.3, III.4, III.5 y III.6 menores a estos valores, se puede concluir que el parámetro de precisión es cumplido por éste método para la determinación de Cadmio y Plomo.

Tabla N°III.5. Repetibilidad para determinación de Cadmio

Cd mg/L	Intensidad I	Intensidad II	Intensidad III	Promedio Int	S	CV	Int. Confianza
0.002	3.02	3.14	3.08	3.08	0.06	1.95	2.93 3.23
0.005	4.99	5.16	5.01	5.05	0.09	1.84	4.81 5.29
0.007	7.15	7.26	7.3	7.24	0.08	1.07	7.04 7.44
0.010	9.37	9.6	9.81	9.59	0.22	2.29	9.03 10.16
0.012	12.24	12.3	12.11	12.22	0.10	0.80	11.97 12.47
0.015	14.39	15.02	14.72	14.71	0.32	2.14	13.90 15.52

Fuente: Elaboración propia

Tabla N°III.6. Precisión Intermedia para determinación de Cadmio

Cd mg/L	Intensidad I	Intensidad II	Intensidad III	Intensidad IV	Promedio Int	S	CV	Int. Confianza
0.002	3.02	3.14	3.17	3.35	3.17	0.14	4.30	2.82 3.52
0.005	4.99	5.16	5.22	5.27	5.16	0.12	2.36	4.85 5.47
0.007	7.15	7.26	7.88	7.46	7.44	0.32	4.33	6.61 8.26
0.010	9.37	9.6	10.08	10.01	9.77	0.34	3.46	8.90 10.63
0.012	12.24	12.3	12.55	12.44	12.38	0.14	1.13	12.02 12.74
0.015	14.39	15.02	15.29	15.13	14.96	0.39	2.64	13.94 15.97

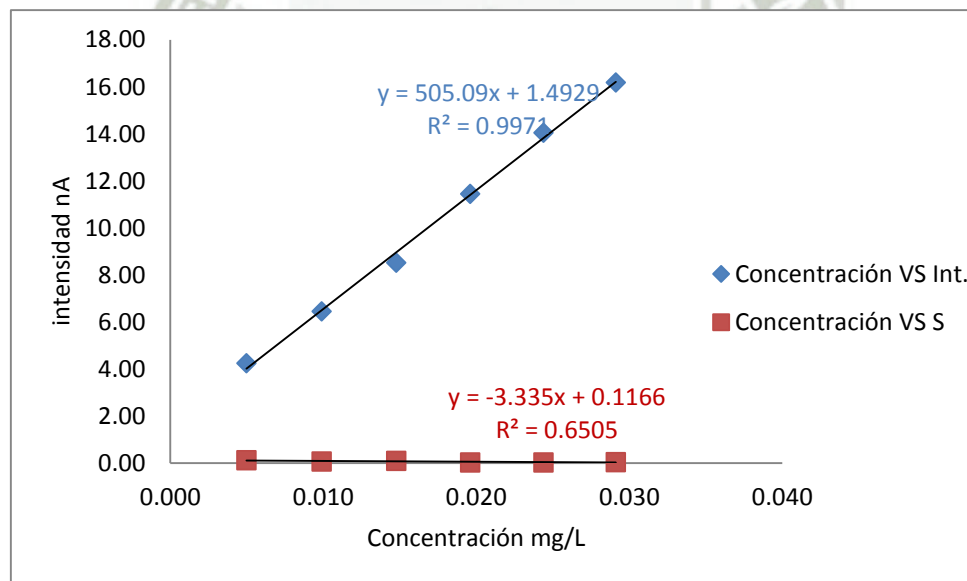
Fuente: Elaboración propia

D. Límite de Detección y de Cuantificación:

La determinación de la concentración mínima que el método puede detectar con precisión y exactitud, se determinó con los datos obtenidos para la linealidad del método, graficándose una línea de concentración versus intensidad y concentración versus desviación estándar.

Aplicando las fórmulas mostradas en el proyecto anexo, se encontró que el Límite de Detección (LDD) del método fue de 0.0015 mg/L y de 0.00038 mg/L, para Plomo y Cadmio respectivamente y el Límite de Cuantificación (LDQ) que muestra el método fue de 0.0021 mg/L y de 0.00039 mg/L, para Plomo y Cadmio respectivamente también, siendo estas concentraciones lo suficientemente bajas para determinar hasta trazas de estos dos metales.

Figura No III.5 Gráfica Concentración VS intensidad y desviación estándar



Fuente: Elaboración propia

E. Exactitud:

Tabla N°III.7. Precisión Intermedia para determinación de Cadmio

	Pb mg/L	Cd mg/L
Valor teórico	1.023	0.508
Valor experimental	1.106	0.512
	1.074	0.529
	1.115	0.536
Promedio	1.098	0.526
Desv. Est.	0.022	0.012
% Recuperación	107.36	103.48

Fuente: Elaboración propia

Para revisar el parámetro de exactitud el que relaciona la cercanía de un valor experimental con un valor teórico, se trabajó con el porcentaje de recuperación, consistiendo en la adición de un estándar que contenía una estándar de 0.5 mg/L de Cadmio y 1 mg/L de Plomo

Los valores del porcentaje de recuperación se muestran en la Tabla N° III.7, los cuales se hallan dentro del rango considerado como aceptado el cual va de 80 a 120 %.

Con lo que se concluye que el método propuesto para la determinación de Plomo y Cadmio en macroalgas muestreadas del litoral marino, se encuentra apto.

III.2. TRATAMIENTO DE LA MUESTRA

Para revisar el parámetro de exactitud debimos saber cuál será el tratamiento exacto que recibirá la muestra, por lo que se inició con una comparación entre distintas cantidades de muestras todos por el método de digestión ácida asistida por microondas, para los que fue necesario un muestreo inicial de solo un punto.

Una vez obtenida la muestra se llevó de inmediato al laboratorio, donde fue enjuagada con agua ultrapura, puesto a que solo deseamos saber el contenido absorbido y no adsorbido de los analitos, Figura N° III.6.



Figura N° III.6. Lavado y secado de macroalgas muestreadas

Posteriormente y por un periodo de 8 h. se secó la muestra a temperatura baja, para no comprometer la presencia de los metales, y se pulverizó, para tomar 20 y 50 mg de ésta, la cual se colocó en los vasos de digestión se adicionó 2 mL de ácido nítrico S.P. y dejaron en la tornamesa.

Una vez transferidos 15 minutos de predigestión, la tornamesa fue introducida en el digestor microondas y se encendió el equipo para la digestión usando una rampa de temperatura de 20 a 200 °C en 20 minutos y una segunda etapa manteniendo la temperatura por 10 min., durante todo el proceso no se necesitó sobrepasar los 600 W de

potencia, como se muestra en la Figura N° III.7, al término del proceso de enfriamiento se evaluaron las concentraciones de Cadmio y Plomo.

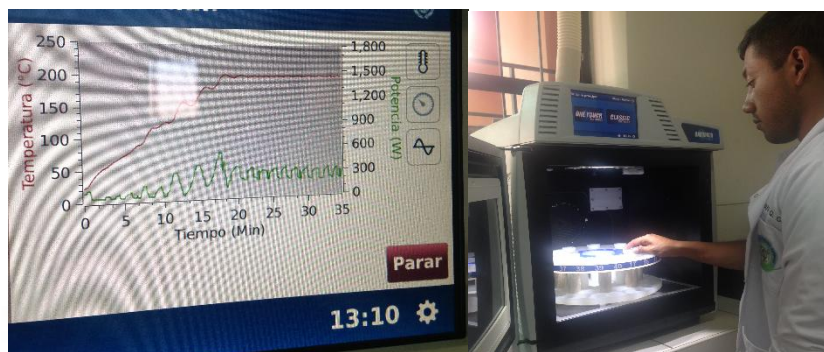


Figura N° III.7 Digestión ácida asistida por microondas

Al ser las muestras procesadas y analizadas los contenidos de Cadmio y Plomo se obtuvo los resultados mostrados en la Tabla N° III.8, además de evidenciar la aparente total digestión de la muestra.

Tabla N III.8 Datos para la comparación de cantidades de muestras a tratar

Cantidad de muestra	Cd mg/L	Pb mg/L
Muestra 20 mg	6.34 +/- 0.81	99.52 +/-1.02
Muestra 50 mg	5.89 +/- 1.28	97.68 +/-2.03

Fuente: Elaboración propia

Al revisar la diferencia estadística entre ambas cantidades de muestras, se obtuvo los datos mostrados en la Tabla N° III.9.

Se muestra que a un nivel de confianza del 95 % ($p > 0.05$) el valor de t experimental es menor al t de tablas, por lo que se acepta que la diferencia entre las medias de ambos grupos no es significativa es decir que no existe diferencia entre ambas cantidades de digestión, por lo que en adelante se trabajó con 20 mg de muestras para la digestión en todo el proceso de monitoreo.

Tabla N° III.9 Prueba t para dos muestras
suponiendo varianzas iguales

	20 mg	50 mg
Media	6.345	5.885
Varianza	0.25205	0.29645
Observaciones	2	2
Varianza agrupada	0.27425	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	2	
Estadístico t	0.8783842	
P(T<=t) una cola	0.23618926	
Valor crítico de t (una cola)	2.91998558	
P(T<=t) dos colas	0.47237852	
Valor crítico de t (dos colas)	4.30265273	

Fuente: Elaboración propia

III.3. COMPARACIÓN DEL MÉTODO VOLTAMPEROMÉTRICO FRENTE AL DE ICP

Antes de iniciar el muestreo de las macroalgas, se realizó una comparación de los métodos voltamperométricos y de ICP, para esto se procesó una muestra y en paralelo la misma fue contaminada con Cadmio y Plomo a concentraciones conocidas con el fin de comparar la recuperación de cada método.

Esta experiencia fue realizada el mismo día para igualar lo más posible las condiciones, en la Tabla N° III.10 se muestran los resultados obtenidos en los equipos

Como se observa en la Tabla N° III.10, los valores obtenidos en mg/L fueron muy similares siendo un poco más altos para el ICP, vale la pena recalcar que esta técnica no realiza especiación, por lo que el valor dado corresponde para Cadmio y Plomo total, en comparación con el método voltamperométrico que mide Cadmio II y Plomo II.

Tabla N° III.10. Datos de comparación de métodos VA y ICP

	ICP		VA	
	Pb 220.353	Cd 226.502	Pb	Cd
Muestra	0.102	0.037	0.098	0.022
Muestra + St	0.322	0.148	0.293	0.127
Valor experimental	0.22	0.111	0.195	0.105
Valor teórico	0.2	0.1	0.2	0.1
% Recuperación	110.00	111.00	97.50	105.00

Fuente: Elaboración propia

Después de cumplir con esta revisión y dado el costo que implica el uso de la técnica ICP, se decidió iniciar con el muestreo y monitoreo de Cadmio y Plomo por Voltamperometría, método ya validado.

III.4. MONITOREO DE CADMIO Y PLOMO EN MACROALGAS

Para el monitoreo de las concentraciones de Cadmio y Plomo en muestras de macroalgas, se realizaron 4 muestreos los cuáles correspondieron a uno por estación del año, los mismos que fueron realizados en los puntos de: Camaná (Punta), Puerto de Atico, Mollendo (ciudad), Periferie Tisur y Punta de Bombón.

Las muestras fueron recolectadas a 2 distancias: en la orilla de los puntos de muestreo y a aproximadamente 1 milla y media mar adentro, vale la pena comentar que la distancia recorrida para el muestreo dependió de relieve marino, respetándose en todos los casos la milla y media de distancia hacia la orilla. Una vez obtenidas estas fueron transportadas al laboratorio y procesadas de inmediato, como ya se describió, este muestreo fue hecho en las 4 estaciones del año.

Al ser procesadas, se tomaron 100 μ L de la solución de las muestras preparadas y fueron transferidos a la celda electroquímica, en la que se habían depositado 10 mL de buffer acetato de sodio pH 4.6, se procedió a la determinación del Plomo y Cadmio presente por voltamperometría de pulso diferencial haciendo uso del método de adición estándar con una solución estándar de Plomo 1 ppm y Cadmio 0.5 ppm, antes de las medidas las muestras fueron purgadas con nitrógeno por 300 s.

Tabla No III.11, Muestreo Ciclo Otoño 2015

Especie		Camaná		Puerto de Atico		Mollendo		Tisur		Punta de Bombon	
		[Pb]	[Cd]	[Pb]	[Cd]	[Pb]	[Cd]	[Pb]	[Cd]	[Pb]	[Cd]
<i>Lessonia nigresceus</i>	1	61.73	6.32	72.31	6.21	50.28	6.45	88.79	9.67	49.62	6.55
	2	51.73	5.67	62.05	5.98	71.78	5.99	61.78	7.12	44.48	6.34
<i>Porphyra Columbina</i>	1	73.55	6.34	76.89	6.99	54.67	6.12	104.73	10.1	46.78	6.12
	2	44.62	6.12	50.51	4.77	51.23	5.11	66.57	7.45	46.29	6.44
<i>Corallina officinalis</i>	1	35.18	3.56	61.61	4.56	31.58	4.12	55.57	6.18	28.39	7.09
	2	31.91	2.49	47.70	3.75	25.26	4.74	54.81	7.02	24.91	6.39

Tabla No III.12, Muestreo Ciclo Invierno 2015

Especie		Camaná		Puerto de Atico		Mollendo		Tisur		Punta de Bombon	
		[Pb]	[Cd]	[Pb]	[Cd]	[Pb]	[Cd]	[Pb]	[Cd]	[Pb]	[Cd]
<i>Lessonia nigresceus</i>	1	63.72	6.12	53.43	6.32	44.67	5.66	67.17	5.12	38.93	5.66
	2	60.49	5.11	62.40	5.67	54.54	5.45	66.05	5.02	34.06	5.11
<i>Porphyra Columbina</i>	1	68.62	5.65	59.54	4.34	64.10	6.07	88.06	4.88	28.11	5.43
	2	61.67	5.21	74.05	4.56	59.71	5.43	88.62	4.98	38.17	5.98
<i>Corallina officinalis</i>	1	22.73	6.21	51.49	4.33	54.77	5.23	61.77	5.09	35.03	5.21
	2	22.25	3.72	47.92	3.89	47.37	4.82	51.42	4.74	32.92	4.86

Fuente: Elaboración propia

Los datos obtenidos en el primer muestreo realizado en el mes de Junio del 2015, se observan en la Tabla No III.11, valores que se encuentran en mg/L tanto para Plomo como para Cadmio.

El segundo muestreo se realizó en el mes de Agosto del 2015, los resultados de este en mg/L se muestran en la Tabla No III.12.

El tercer muestreo fue realizado en el mes de Diciembre del 2015, los resultados en mg/L de este se muestran en la Tabla No III.13.

Tabla No III.13, Muestreo Ciclo Primavera 2015

Especie		Camaná		Puerto de Atico		Mollendo		Tisur		Punta de Bombon	
		[Pb]	[Cd]	[Pb]	[Cd]	[Pb]	[Cd]	[Pb]	[Cd]	[Pb]	[Cd]
<i>Lessonia nigresceus</i>	1	47.23	2.34	45.23	2	42.50	3.87	46.89	3.27	30.46	2.53
	2	43.62	2.02	45.26	2.06	41.88	3.21	47.02	4.11	23.93	2.01
<i>Porphyra Columbina</i>	1	45.29	3.34	43.17	3.08	44.32	3.82	45.73	5.12	15.32	3.23
	2	42.12	3.08	40.92	3.01	44.01	2.5	45.24	4.89	14.70	3.12
<i>Corallina officinalis</i>	1	40.73	4.02	39.32	2.99	34.61	4.21	45.61	3.70	10.12	3.28
	2	34.94	3.65	39.00	2.86	35.60	3.61	45.20	4.01	5.51	3.99

Fuente: Elaboración propia

Para concluir con el monitoreo se hizo la última toma de muestras en el mes de Marzo de 2015, la Tabla No III.14 resume los datos obtenidos para entonces.

Tabla No III.14, Muestreo Ciclo Verano 2016

Especie		Camaná		Puerto de Atico		Mollendo		Tisur		Punta de Bombon	
		[Pb]	[Cd]	[Pb]	[Cd]	[Pb]	[Cd]	[Pb]	[Cd]	[Pb]	[Cd]
<i>Lessonia nigresceus</i>	1	49.40	4.62	49.70	4.99	49.61	4.85	59.31	5.82	35.19	4.19
	2	48.59	4.29	45.14	4.72	43.70	4.29	52.38	4.73	31.41	3.72
<i>Porphyra Columbina</i>	1	51.10	4.28	44.47	4.61	41.56	4.19	51.18	4.64	34.25	3.03
	2	50.02	5.01	43.94	4.55	41.32	3.98	50.24	6.28	27.92	3.01
<i>Corallina officinalis</i>	1	47.64	3.19	42.69	4.02	38.64	3.04	46.63	4.27	21.51	3.00
	2	46.25	3.28	40.13	4.00	37.73	3.09	44.97	4.16	21.20	3.18

Fuente: Elaboración propia

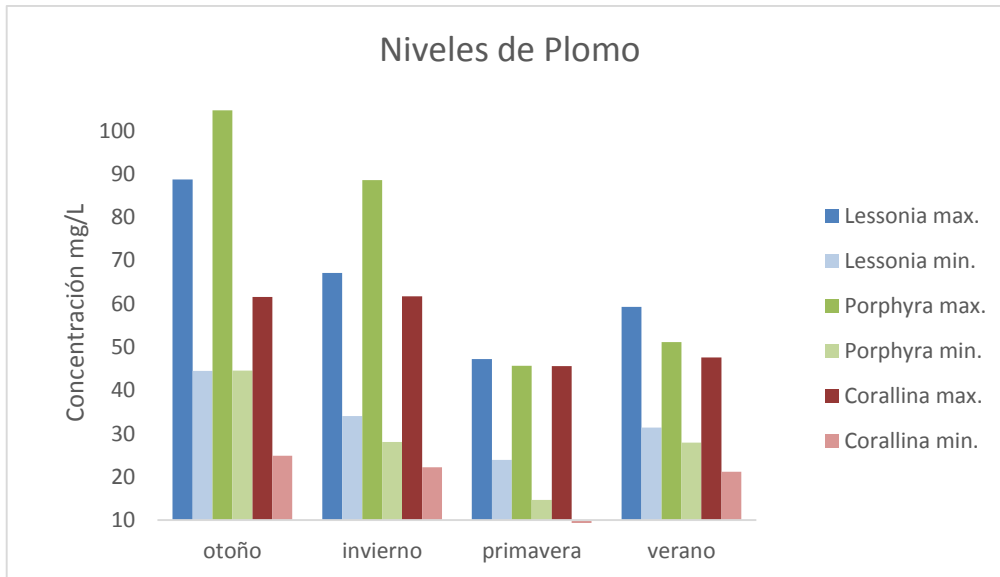


Figura No III.7 Valores máximos y mínimos de Plomo para 3 macroalgas marinas

Durante el monitoreo se fueron notando algunas variaciones en cuanto a concentraciones de Cadmio y Plomo, habiendo concentraciones menores siempre para la macroalga *Corallina officinalis*, lo que nos puede inducir a pensar que esta macroalga no tiene la misma capacidad para absorber los metales como si probablemente lo hacen *Lessonia nigresceus* y *Porphyra Columbina*.

Para una mejor apreciación de los resultados obtenidos, se construyeron gráficos en los que se resumen los datos, la Figura No III.7 nos muestra los valores máximos y mínimos por cada especie tomada en el muestreo por diferentes estaciones del año.

Las concentraciones mayores halladas de plomo, se dieron en la estación de otoño alcanzando un máximo de 104.73 mg/Kg de Plomo, así mismo los niveles de este metal sufrieron una baja notable para la estación de la primavera, habiendo que comentar que el muestreo en esta época del año se hizo con más dificultad puesto que se presentaron oleajes anómalos, lo cual podría ser un factor para baja en las concentraciones.

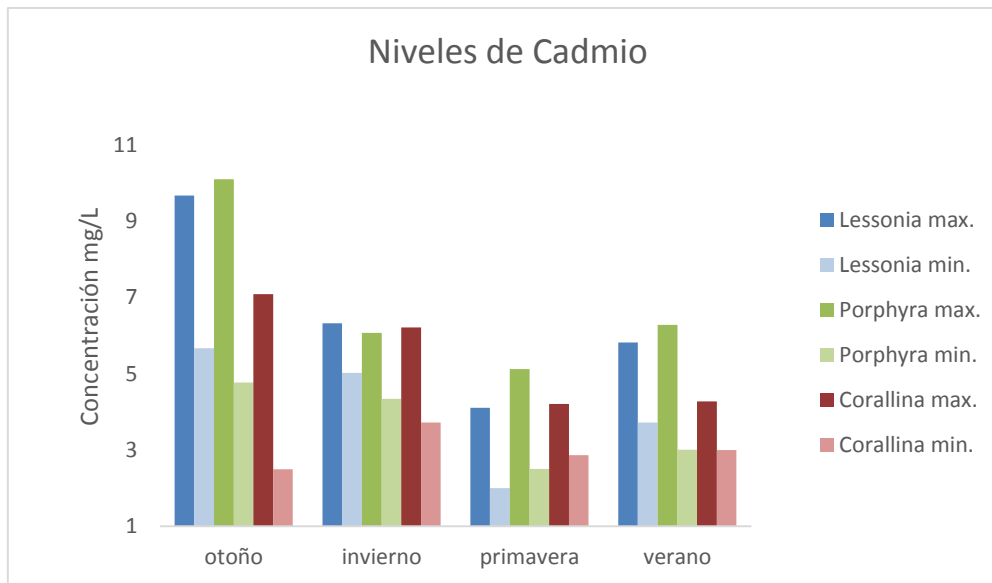


Figura N° III.8 Valores máximos y mínimos de Cadmio para 3 macroalgas marinas

Asimismo, los resultados máximos y mínimos de Cadmio han sido resumidos en la Figura N° III.8, los cuáles muestran la misma tendencia que para el Plomo, teniendo como valor máximo 10.10 mg/Kg de Cadmio, los que nos dice de la capacidad de bioabsorción de Plomo y Cadmio por parte de la macroalga *Lessonia nigresceus*.

Tabla No III.15. Valores de Cadmio y Plomo en agua de mar

	Camaná		Puerto de Atico		Mollendo		Tisur		Punta de Bombon	
	[Pb]	[Cd]	[Pb]	[Cd]	[Pb]	[Cd]	[Pb]	[Cd]	[Pb]	[Cd]
Otoño	27.83	4.01	24.81	3.29	29.01	3.69	31.03	4.09	27.84	4.01
Invierno	26.94	3.96	27.39	3.17	25.83	3.81	33.74	4.18	28.81	3.47
Primavera	29.18	3.85	28.37	3.97	27.89	3.74	34.68	4.37	26.66	3.83
Verano	29.37	3.99	27.83	4.02	26.59	4.01	30.27	4.12	28.95	3.20

Fuente: Elaboración propia

En la actualidad no se han reportado estudios de este tipo y con estas macroalgas en nuestra región, de ahí el interés en realizarlo, sin embargo hay estudios que relacionan macroalgas como *Lessonia nigrescens* Bory y *Macrocystis integrifolia* Bory en las que se han evaluado las concentraciones de Cadmio y Plomo que son capaces de absorber y la influencia que posee el pH, porque se decidió evaluar también el pH de las muestras, estando todas en un rango de 6.9 a 8.21, rango que según estos estudios no favorecería mucho la absorción de los metales.⁴⁰

Durante el proceso del monitoreo, se tomaron muestras de agua de mar de los mismos puntos de muestreo para las macroalgas, estas muestras fueron analizadas para determinar el contenido de Cadmio y Plomo, valores que se resumen en la Tabla N° III.15.

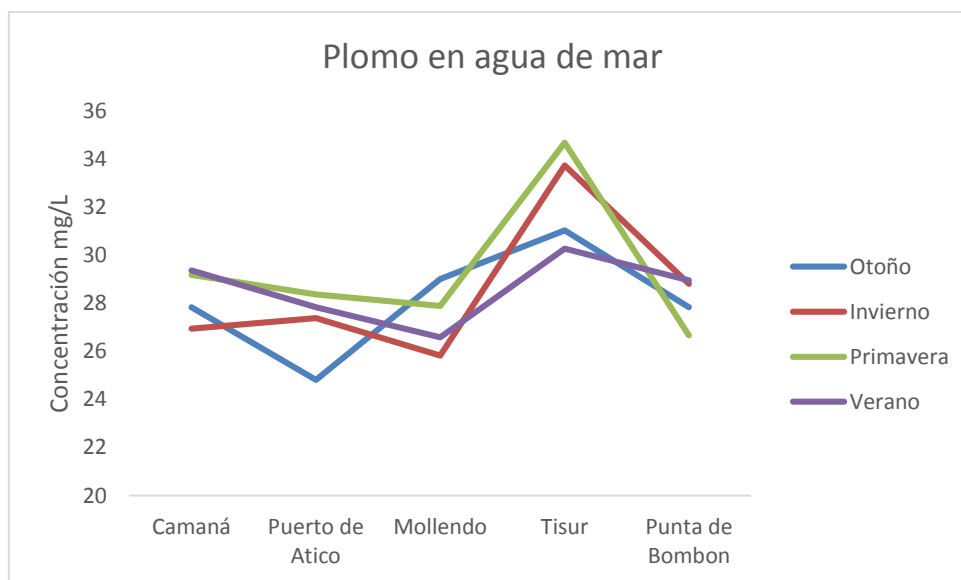


Figura No III.9 Valores de Plomo en agua de mar

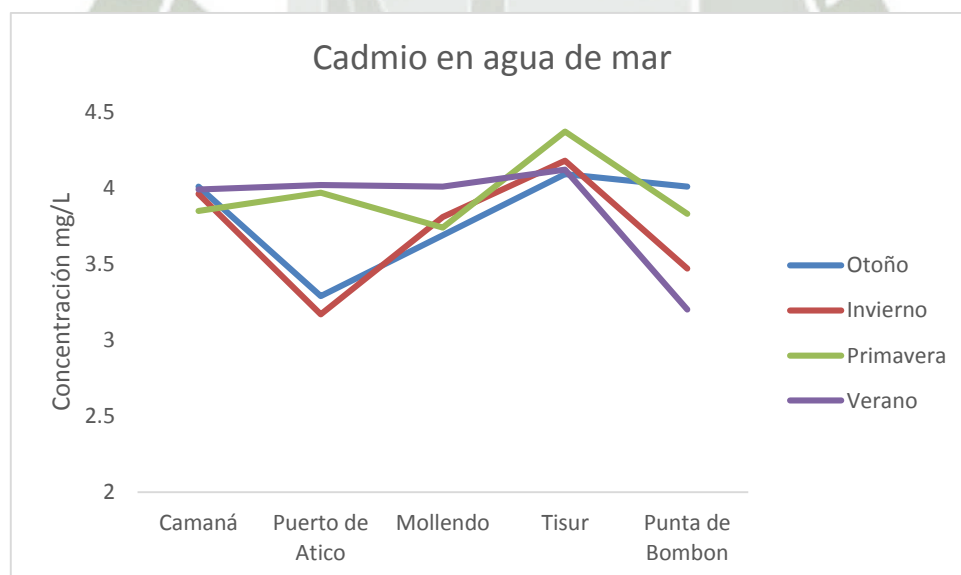


Figura No III.10 Valores de Cadmio en agua de mar

La Figura No III.9 refleja los valores de Plomo en agua de mar, siendo mayores las concentraciones en el punto de la Periferie de Tisur, en el Perú no existen límites máximos

tolerables o recomendados en agua de mar, a excepción de agua de mar destinada para un proceso ³⁸ o actividad marino costera, sin embargo lo estipulado por la Canadian Environmental Quality Guidelines ³⁹ nos recomienda no exceder los 30.2 mg/7L de Plomo en medio marino, valor que es superado casi en un 100 % por el punto de Tisur.

Para el caso de los niveles de Cadmio, resumidos en la Figura No I.10, el único valor que supera lo recomendado por la Canadian Environmental Quality Guidelines (4.2 mg/L) es para la estación de primavera en el punto de Tisur.



CAPÍTULO IV CONCLUSIONES

1. Se logró validar el método para la determinación de Cadmio y Plomo en macroalgas marinas por voltamperometría de redisolución anódica, siendo este lineal, preciso (CV <8 %), exacto (recuperación entre 80 y 120 %), con LDD y LDQ de 0.0015 y 0.0021 mg/Kg para Plomo y 0.00038 y 0.00039 mg/Kg para Cadmio.
2. Al comparar la técnica de determinación voltamperométrica de Pb(II) y Cd(II) con la técnica por ICP, no se reportaron diferencias estadísticamente significativas por lo que se decidió realizar el muestreo con el método de voltamperometría de redisolución anódica.
3. Se determinó concentraciones de Pb(II) y Cd(II) en aguas de mar del litoral de la Región Arequipa, habiendo concentraciones de Plomo en el rango de 24.81 a 34.8 mg/L y de 3.17 a 4.37 mg/L de Cadmio, estando solo en el punto de Tisur por encima de los niveles conocidos como seguros.
4. Al realizar el monitoreo de las macroalgas en los 5 puntos de muestreo se encontraron concentraciones que van de 5.51 a 104.73 mg de Plomo por Kilogramo de macroalga y de 2.24 a 10.00 mg de Cadmio por kilogramo de macroalga.

CAPÍTULO V

REFERENCIAS BÁSICAS

1. JINSONG HE, J. PAUL CHEN; “A comprehensive review on biosorption of heavy metals by algal biomass: Materials, performances, chemistry, and modeling simulation tools”; *Bioresource Technology* 160 (2014) 67–78
2. SILVIA FARIÁS, SEBASTIAN PÉREZ, CRISTIAN VODOPIVEZ, PATRICIA SMICHOWSKI; “Levels of essential and potentially toxic trace metals in Antarctic macro algae”; *Spectrochimica Acta Part B* 57 (2002) 2133–2140
3. AYCA ATA, ORKUN OVEZ NALCACI, BIKEM OVEZ; “Macro algae *Gracilaria verrucosa* as a biosorbent: A study of sorption mechanisms”; *Algal Research* 1 (2012) 194–204
4. Duffus JH. — Heavy Metals - a meaningless term (IUPAC Technical Report). *Clinical Chemistry*. 2002;74:793-807.
5. Environmental Protection Agency (EPA). Disponible en: www.epa.gov.
6. Gibson GR. Physiology and ecology of the sulphate-reducing bacteria. *Journal of Applied Bacteriology*. 1990;69:769-797.
7. Babel S, Dacera DDM. Heavy metal removal from contaminated sludge for land application: a review. *Waste Management*. 2006;26:988-1004.
8. Nriagu JO, Azcue JM. Food contamination with arsenic in the environment. In: Simmons JON and MS, ed. *Food Contamination from environmental sources*. Inc. N.Y. John Wiley & Sons; 1990:121-144.
9. *United States Agency for International Development (USAID)*, disponible en: http://www.dsm.com/en_US/downloads/dnp/51605_fort_basics_leche.pdf.

10. Norma General Del Codex Para El Uso De Términos Lecheros .Codex Stan 206-1999.1 disponible <http://www.codexalimentarius.net>.
11. Héctor Manterola B. “Manejo nutricional y composición de la leche”, disponible en: <http://www.agronomia.uchile.cl/revistaagronomia>.
12. Michel A. Wattiaux, “Composición de la leche y valor nutricional”, Instituto Babcock para la Investigación y Desarrollo Internacional de la Industria Lechera, Universidad de Wisconsin-Madison, disponible en: http://babcock.wisc.edu/sites/default/files/de/es/de_19.es.pdf
13. Cake Km, Bowins RJ, Vaillancourt C, Gordon CL, MacNutt RH, Laporte “The partition of circulating lead between serum and red cells is different for internal and external sources of lead” *Am J Ind Med* 1996; Vol 29, 440-445.
14. Magdalena Araya, Manuel Olivares Grohnert y Fernando Pizarro; Cobre, Salud, Medio Ambiente y Nuevas Tecnologías; Disponible en [http://www.ecosea.cl/pdfs/Cobre_Salud_Medio_Ambiente_Nuevas_Tecnologias .pdf](http://www.ecosea.cl/pdfs/Cobre_Salud_Medio_Ambiente_Nuevas_Tecnologias.pdf), consultado el 10 Diciembre del 2014
15. Peter Jacobs, Lucille Wood; Copper; *Disease-a-Month*, Volume 49, Issue 10, October 2003, Pages 589-600
16. Malins, D.C. y Ostrander, G.K. (1991). Perspective in aquatic toxicology. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 31: 371-399.
17. Narbonne, J.F. y Michel, X. (1993). Use of biomarkers in the assessment of contamination in marine ecosystems. Fundamental approach and applications. *MAP Tech. Repp. Ser.*, 71: 1-20.
18. Stohs, S.J. y Bagchi, D. (1995). Oxidative mechanism in the toxicity of metal ions. Review article. *Free Radic. Biol. Med.*, 18(2): 321-336.

19. Azevedo, H.; Monken, H.; Melo, V. (1988) Study of Heavy Metal Pollution in the Tributary Rivers of the Jacarepagua Lagoon, Rio de Janeiro State, Brazil, Through Sediment Analysis. En: U. Seeliger, L. De Lacerda, S. Patchineelam (Eds) Metals in Coastal Environments of Latin America. Srynger – Verlag: 21 – 29.
20. Soto, M. (2001) Biodisponibilidad de Metales Pesados (Cd, Cu y Pb) en Sedimentos Marinos Superficiales Procedentes de las Principales Zonas Ostrícolas del Estado de Sonora. Tesis, Escuela de Ingeniería Química. Universidad de Sonora.
21. Ryan J. and Windom H. (1988) A Geochemical and Statistical Approach for Assessing Metal Pollution in Coastal Sediments. En: Seeliger U., De Lacerda L., Patchineelam S. (Eds) Metal in Coastal Environments of Latin America. Srynger – Verlag.
22. Salomons, W., Kerdijk, H., Van Pagee, H., Klomp, R. and Schreur, A. (1988) Behaviour and Impact Assessment of Heavy Metals in Estuarine and Coastal Zones. En: U. Seeliger, L. De Lacerda, S. Patchineelam (Eds) Metals in Coastal Environments of Latin America. Srynger – Verlag: 157 – 198.
23. Waldichuk, M. (1974) Some biological concerns in heavy metals pollution. En: Verenberg, F.J. & W.B. Verenberg (Eds.) Pollution and physiology of marine organisms. Academic Press, New York: 1 – 45.
24. Parr microwave acid digestion bombs, bulletin 4700; disponible en: <http://pdf.directindustry.com/pdf/parr-instrument-company/sample-preparation-vessels/28323-75230-8.html>
25. Claudio E. Glauber. 2007. Veterinaria Argentina, M.V. Dpto. Producción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA, Ciudad de Buenos Aires. www.produccion-animal.com.ar.

26. G. García Reina, A. Martel Quintana “Usos y aplicaciones de macroalgas, microalgas y cianobacterias en agricultura ecológica”, Instituto de Algología Aplicada, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria
27. Candelaria Silva Carlos, Géneros de algas marinas tropicales de México, Volumen 1; 1ª edición, 2007, Edit. Las prensas de ciencias.
28. I Lauren E Garske, MACROALGAS MARINAS, Estación Científica Charles Darwin, Santa Cruz, Galápagos, Ecuador; Visitado el 02/01/2015; Disponible en file:///D:/Users/Administrator/Documents/juancho%20escritorio/Maestr%C3%ADa/tesis/Algas%20Cd%20y%20Pb/macroalgas.pdf
29. Roldán Pérez, G.; “Los macroinvertebrados y su valor como indicadores de la calidad del agua”; Rev. Acad. Colombiana Cienc. 23(88): 375-387, 1999
30. Lyn Patrick, ND “Lead Toxicity, A Review of the Literature; Part I: Exposure, Evaluation, and Treatment”; Alternative Medicine Review, Vol. 11, N°1, 2006.
31. Godofredo Pebe, Hugo Villa, Luis Escate, Gonzalo Cervantes, “Niveles de plomo sanguíneo en recién nacidos de la Oroya, 2004-2005” Rev Peru Med Exp Salud Pública. 2008; 25(4):355-60.
32. Banco Mundial, Unidad de Desarrollo Sostenible-Región de América Latina y el Caribe, “República del Perú: Análisis Ambiental del Perú: Retos para un desarrollo sostenible”, Volumen I: Resumen Ejecutivo, Mayo, 2007, disponible en: www.onu.org.pe/upload/documentos/cea_summary.pdf
33. Augusto V. Ramírez, Juan Cam Paucar y José M. Medina, “Plomo sanguíneo en los habitantes de cuatro localidades peruanas”, Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health 1(5), 1997.

34. Harvey. D. DePauw University. “Modern Analytical Chemistry”, McGraw-Hill Higher Education. 2000, Pag 508-520.
35. Norma A. Cuizano, Úrsula F. Reyes, Susana Domínguez, Bertha P. Llanos, Abel E. Navarro, Relevance of the pH on the adsorption of metallic ions by brown seaweeds, Rev Soc Quím Perú. 76 (2) 2010
36. Estudios Sobre Macroalgas Pardas en el Sur del Perú. 2011 – 2015, Instituto del mar del Perú Informe ISSN 0378 – 7702 Volumen Extraordinario; Disponible en: <http://biblioimarpe.imarpe.gob.pe:8080/bitstream/handle/123456789/2179/INF%20EXT.%20II.pdf?sequence=1>, consultado el 12/06?2016
37. Marlene René Rodríguez Espejo, Copper bioaccumulation in *Chondracanthus chamissoi* from Salaverry, Trujillo-Perú intermareal zone, REBIOL 2014; 34(2): 13-20, Julio - Diciembre
38. Datos ECAS agua <http://sinia.minam.gob.pe/estadisticas/base-datos-ambientales>, Consultado el 29 de junio del 2016
39. Valores de Cadmio y Plomo seguros en agua de mar disponible en http://www.ccme.ca/en/resources/canadian_environmental_quality_guidelines/, consultado el 30 de junio del 2016
40. Norma A. Cuizano , Úrsula F. Reyes , Susana Domínguez , Bertha P. Llanos , Abel E. Navarro, **Relevance Of The Ph On The Adsorption Of Metallic Ions By Brown Seaweeds**, Rev Soc Quím Perú. 76 (2) 2010 Rev Soc Quím Perú. 76 (2) 2010





INSTITUTO CIENTIFICO MICHAEL OWEN DILLON (IMOD)
Investigación, Conservación, Educación y Transformación de Recursos

CONSTANCIA

EL DIRECTOR DEL INSTITUTO CIENTÍFICO MICHAEL OWEN DILLON
IMOD, DE AREQUIPA

HACE CONSTAR:

Que, las muestra de algas presentada por el Sr. **JUAN LEONARDO QUISPE GALDOS**, para realizar su tesis recolectada en el Departamento de Arequipa, Provincia de Mollendo, corresponde a las siguientes especies:

1. *Lessonia nigrescens* (Lessoniaceae)
2. *Porphyra columbina* (Bangiaceae)
3. *Corallina officinalis* (Corallinaceae)

Determinador: Dr. Abraham Calla Paredes

Se le expide la presente, a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Arequipa, 21 de julio del 2016





C. B. P. 2484
Director del Instituto Científico Michael Owen Dillon (IMOD)
vquispecaza@unsa.edu.pe

