



Universidad de la República

Facultad de Ciencias

Programa de Posgrado en Ciencias Ambientales

**Bioacumulación de metales en el molusco bentónico  
*Heleobia australis* (d'Orbigny, 1835): potencial bioindicador  
de contaminación en sistemas estuarinos del Uruguay**

Autor de la Tesis: Lic. Ignacio Seoane (iseoane@latu.org.uy)

Tutor de la Tesis: Dr. Pablo Muniz

Miembros del Tribunal: Dra. Carolina Bueno (FC)

Dr. Javier García-Alonso (CURE)

Dr. Rubens C. L. Figueira (IOUSP)

Montevideo – Uruguay.

2023

## Resumen

Los estuarios son lugar de refugio, reproducción y cría para un gran número de especies. El gran desarrollo humano ha generado niveles elevados de contaminación que hacen peligrar el aprovechamiento de los servicios ecosistémicos que estos brindan.

En la zona costera de Montevideo, se han reportado elevados niveles de contaminación por metales pesados principalmente en la Bahía. Los metales pueden ser ingeridos junto con el sedimento por los organismos bentónicos que se alimentan de depósitos de materia orgánica presentes en el sedimento. Estos metales no solo pueden causar efectos directos sobre los organismos, sino que pueden entrar en las cadenas tróficas costeras.

En este trabajo se determinó el potencial de bioacumulación de metales en un organismo bentónico ampliamente distribuido en el Río de la Plata: *Heleobia australis*. Se analizó el contenido de metales en los tejidos blandos y en los sedimentos, en sitios con diferentes características en cuanto a urbanización e impactos antropogénicos. Los resultados obtenidos del Factor de Acumulación Biota-Sedimento (BSAF) muestran que *Heleobia australis* se clasificaría como macroconcentradora para cobre y cinc y microconcentradora para níquel, cromo y plomo.

Los índices de contaminación metálica (MPI) para metales en *Heleobia australis* y el índice de carga contaminante ( $PLI_{Hel}$ ) calculados muestran que los dos sitios de la Bahía de Montevideo son los lugares con mayor contaminación metálica en *Heleobia australis*, seguidos por Punta Carretas y Puerto del Buceo. Los factores de enriquecimiento metálico (FE) en los sedimentos muestran un enriquecimiento moderado en los puntos de la Bahía de Montevideo para los metales cromo, cobre y plomo. También se observa enriquecimiento moderado de plomo en la playa de Punta Carretas y de cromo en la playa del Puerto del Buceo.

La bioacumulación de metales en *Heleobia australis* refleja la contaminación metálica en sedimentos por lo que es un buen bioindicador.

Palabras Claves: *Heleobia*, Metales, bioacumulación, estuarios, factor de enriquecimiento, contaminación metálica, sedimentos, gasterópodo.

## Agradecimientos

Quisiera agradecer en primer lugar a toda la estructura del Programa de Posgrado en Ciencias Ambientales, secretaría, profesores y compañeros de la MACA por darme el ámbito para poder aprender un montón y compartir experiencias inolvidables. Un agradecimiento muy especial al Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU) que no solo aportó la financiación, sino que toda la estructura que permitió poder desarrollar de la mejor manera todos los ensayos involucrados en la Tesis. Un agradecimiento muy especial a mis compañeros Paty, Ricardo, Majo, Victoria, Ale, Rosario, Ceci y toda la barra del Departamento de Calidad de Agua y Evaluación Ambiental (CAEA) por la ayuda con las muestras, los análisis, por la buena onda de siempre y por soportarme hablando de mis Heleobias y bancarme la cabeza.

Un agradecimiento especial para el Departamento de Metrología Química del LATU en especial a Ramiro y a Romina por la buena onda y la disposición para realizar los análisis de metales de una excelente calidad y por responder un millón de preguntas sobre el método y los resultados. Al Departamento de Microbiología del LATU en particular a Ruth, Cecilia y Paula por la buena onda y disposición para poder liofilizar las muestras de sedimento y biota.

Un agradecimiento muy especial a mi tutor Pablo Muniz por meterme en este tema de las Heleobias y los metales y por estar siempre a disposición y confiar en que yo podía lograr terminar la Tesis. También por corregir y colaborar en la mejora de la Tesis y guiarme en lo que era relevante y en lo que no.

Finalmente, un agradecimiento a toda mi familia y amigos para darme para adelante siempre y desearme lo mejor en todo momento.

Para mi amor Andy, y mis otros dos amores, mis dos hijos Lu y Guille mil gracias por siempre estar conmigo, darme siempre para adelante y sobre todo por aguantarme la cabeza este último mes en los largos días y noches de redacción de la Tesis. Lu y Guille también participaron activamente en el muestreo del Arroyo Solís Grande, Puerto del Buceo y Punta Carretas con gran profesionalismo y dedicación.

Para ellos tres va dedicado este manuscrito.

## Tabla de contenido

Resumen .....	2
Agradecimientos.....	3
Tabla de contenido.....	4
Lista de Figuras.....	7
Lista de Tablas .....	10
1- Introducción.....	11
1.1- Contaminación en ecosistemas estuarinos.....	11
1.2- Estuario del Río de la Plata.....	12
1.3- Contaminación por metales.....	14
1.4- Determinación de metales y bioacumulación.....	16
2- Objetivos .....	18
2.1- Objetivo principal.....	18
2.2- Objetivos específicos .....	18
3- Hipótesis de trabajo .....	19
4- Materiales y métodos .....	20
4.1.1- Bahía de Montevideo.....	21
4.1.2- Punta Carretas y Punta Yeguas.....	24
4.1.3- Puerto del Buceo .....	27
4.1.4- Arroyo Solís Grande .....	27
4.1.5- Laguna de Rocha .....	28
4.2- Toma de muestras .....	29
4.2.1- Muestreo de sedimentos .....	29
4.2.2- Obtención de organismos.....	30
4.2.3- Muestreo de Agua .....	32
4.3- Análisis de aguas. ....	32
4.3.5- Conductividad / Salinidad .....	35

4.4- Análisis de sedimentos.....	41
4.4.1.1- Nitrógeno Kjeldahl. ....	41
4.4.1.2- Nitrito, nitrato y sulfato. ....	42
4.4.1.3- Sulfuro. ....	44
4.4.1.4- Clorofila a.....	45
4.4.1.5- Fósforo Total.....	45
4.4.1.6- Fenoles. ....	46
4.4.1.7- Materia orgánica.....	47
4.4.1.8- Distribución de tamaño de partículas.....	48
4.4.2- Análisis de Metales en sedimento.....	49
4.5- Análisis de Metales en <i>Heleobia australis</i> .....	51
4.6- Análisis de datos. ....	54
4.6.1. Índices de contaminación metálica en sedimento.....	54
5- Resultados. ....	60
5.1- Resultados análisis fisicoquímicos de Aguas.....	60
5.2- Resultados análisis de Sedimentos.....	68
5.2.1- Resultados fisicoquímicos de Sedimentos.....	68
5.2.1.1- Distribución de tamaño de partículas. ....	68
5.2.1.2- Materia orgánica.....	73
5.2.1.3- Nitrógeno y Fósforo total.....	74
5.2.1.4- Sulfatos y sulfuros volátiles en ácido.....	75
5.2.1.5- Sustancias fenólicas.....	77
5.2.1.6- Clorofila a.....	77
5.2.2- Análisis de metales en sedimento.....	78
5.3- Análisis de metales en <i>Heleobia australis</i> .....	87
5.4- Índices de contaminación en sedimentos. ....	89
5.4.1- Factor de enriquecimiento (FE).....	89

5.4.2- Índice de carga contaminante (PLI) y grado de contaminación modificado ( <i>mCd</i> ) .....	92
5.5- Índices de toxicidad en <i>Heleobia australis</i> . .....	95
5.5.1- Factor de acumulación biota-sedimento (BSAF). .....	95
5.5.2- Índice de contaminación metálica (MPI). .....	96
5.5.3- Índice de carga contaminante en <i>Heleobia</i> ( $PLI_{Hel.}$ ). .....	97
5.6- Análisis estadísticos. ....	98
5.6.1- Análisis de correlación lineal de Spearman. ....	98
6- Discusión .....	106
7- Conclusiones y Perspectivas .....	115
8- Bibliografía .....	117

## Lista de Figuras

Figura 1. Ubicación de los cinco sitios de muestreo de la costa de Montevideo (tomado de Google Earth).....	20
Figura 2. Ubicación de los sitios de muestreo de arroyo Solís Grande y Laguna de Rocha respecto a los dos sitios más al este de Montevideo (tomado de google earth).....	21
Figura 3. Bahía de Montevideo (tomado de Google Earth).....	21
Figura 4. Sitios de muestreo en Bahía de Montevideo (tomado de Google Earth).....	23
Figura 5. Sitio de muestreo Estadio Olímpico (tomado de Google Earth).....	23
Figura 6. Sitio de muestreo Pantanoso (tomado de Google Earth).....	24
Figura 7. Disposiciones finales al culminar el Plan de Saneamiento Urbano en su etapa IV (PSU IV). A la derecha Planta de Tratamiento de Efluentes de Punta Yeguas.....	25
Figura 8. Sitio de muestreo en playa de Punta Yeguas (tomado de Google Earth).....	26
Figura 9. Sitio de muestreo en playa de Punta Carretas (tomado de Google Earth).....	26
Figura 10. Sitio de muestreo en playa del Puerto del Buceo (tomado de Google Earth).....	27
Figura 11. Sitio de muestreo en playa del margen oeste del Arroyo Solís Grande (tomado de Google Earth).....	28
Figura 12. Sitio de muestreo en Laguna de Rocha (tomado de Google Earth).....	29
Figura 13. Conductímetro Hanna EDGE; medida de la solución de KCl.....	36
Figura 14. Medidor de oxígeno disuelto YSI 5100.....	38
Figura 15. Equipo LACHAT Quikchem 8500 Series 2 de cuatro canales.....	42
Figura 16. Cromatógrafo de Iones Thermo (Dionex) ICS 5000+.....	43
Figura 17. Esquema del equipo utilizado para la destilación de sulfuros solubles en ácido.....	44
Figura 18. Equipo Microtrac Modelo S3500 para distribución de tamaño de partículas por láser.....	48
Figura 19. Digestor de microondas Anton Paar.....	50
Figura 20. Equipo ICP-SFMS marca Thermo Fisher Scientific Modelo Element2.....	51
Figura 21. <i>Heleobia australis</i> congelada a -20 °C (izquierda) y <i>Heleobia australis</i> después de liofilizar por 24 Hs (derecha).....	53
Figura 22. Resultados de pH en aguas de los siete sitios de muestreo.....	60
Figura 23. Resultados de conductividad y salinidad en aguas de los siete sitios de muestreo.....	61
Figura 24. Resultados de los análisis de fósforo total y fosfato.....	62
Figura 25. Resultados de los análisis de nitrato y sulfato en aguas para los siete sitios de muestreo.....	64
Figura 26. Resultados de oxígeno disuelto para cada una de las aguas de los sitios de muestreo....	64
Figura 27. Resultados del parámetro turbiedad en los siete sitios de muestreo.....	65

Figura 28. Resultados de clorofila <i>a</i> , en aguas de los siete sitios de muestreo. ....	66
Figura 29. Resultados del análisis de Sólidos Suspendedos Totales (SST) en aguas. ....	66
Figura 30. Resultados de Nitrógeno total (TN) y de carbono orgánico total (TOC) en aguas.....	67
Figura 31. Granulometría de los sedimentos de los siete sitios de muestreo según % del tamaño de grano, agrupado en las fracciones de arcilla, limo y las diferentes clases de arena.....	70
Figura 32. Grado de selección de los sedimentos (Folk & Ward, 1957); clasificación y resultados. ...	70
Figura 33. Asimetría gráfica de los sedimentos (Folk & Ward, 1957); clasificación y resultados. ....	71
Figura 34. Angulosidad de los sedimentos (Folk & Ward, 1957); clasificación y resultados.....	71
Figura 35. Distribuciones de tamaño de partículas para cada uno de los 7 sitios de muestreo. ....	72
Figura 36. Resultado de estándares de distribución de tamaño de partículas con sus distribuciones correspondientes a la derecha de cada tabla. ....	73
Figura 37. Porcentaje de materia orgánica en los sedimentos de los siete sitios de muestreo. Límite de cuantificación del método 0,1 g/100g.....	74
Figura 38. Representación gráfica de los resultados de fósforo y nitrógeno total para cada uno de los sedimentos de los sitios de muestreo. ....	75
Figura 39. Diagrama de barras para las concentraciones de sulfuro en sedimento .....	76
Figura 40. Resultados de análisis de sustancias fenólicas en sedimentos. ....	77
Figura 41. Concentraciones de clorofila <i>a</i> , en sedimentos (base seca). ....	77
Figura 42. Resultados de recuperación de metales en sedimento con material certificado NIST 2702 .....	79
Figura 43. Resultados de análisis de cadmio en sedimentos. Resultados marcados entre paréntesis no se incluyen en el cálculo del promedio, desvío estándar y desvío estándar relativo RSD(%). Se incluye además diagrama de Box Plot para test de outliers y gráfica de concentraciones por punto.	80
Figura 44. Resultados de análisis de cromo en sedimentos. Resultados marcados entre paréntesis no se incluyen en el cálculo del promedio, desvío estándar y y desvío estándar relativo RSD(%). Se incluye además diagrama de Box Plot para test de outliers y gráfica de concentraciones por punto.	81
Figura 45. Resultados de análisis de cobre en sedimentos Resultados marcados entre paréntesis no se incluyen en el cálculo del promedio, desvío estándar y y desvío estándar relativo RSD(%). Se incluye además diagrama de Box Plot para test de outliers y gráfica de concentraciones por punto.	82
Figura 46 Resultados de análisis de escandio en sedimentos. Resultados marcados entre paréntesis no se incluyen en el cálculo del promedio, desvío estándar y y desvío estándar relativo RSD(%). Se incluye además diagrama de Box Plot para test de outliers y gráfica de concentraciones por punto.	83
Figura 47. Resultados de análisis de mercurio en sedimentos. Resultados marcados entre paréntesis no se incluyen en el cálculo del promedio, desvío estándar y desvío estándar relativo RSD(%). Se incluye además gráfica de concentraciones por punto. ....	84
Figura 48. Resultados de análisis de níquel en sedimentos. Resultados marcados entre paréntesis no se incluyen en el cálculo del promedio, desvío estándar y desvío estándar relativo RSD(%). Se incluye además diagrama de Box Plot para test de outliers y gráfica de concentraciones por punto.	85

Figura 49. Resultados de análisis de plomo en sedimentos. Resultados marcados entre paréntesis no se incluyen en el cálculo del promedio, desvío estándar y desvío estándar relativo RSD(%). Se incluye además diagrama de Box Plot para test de outliers y gráfica de concentraciones por punto.	86
Figura 50. Resultados de análisis de cinc en sedimentos. Resultados marcados entre paréntesis no se incluyen en el cálculo del promedio, desvío estándar y desvío estándar relativo RSD(%). Se incluye además diagrama de Box Plot para test de outliers y gráfica de concentraciones por punto.	87
Figura 51. Factor de enriquecimiento (FE) calculado respecto del background de los resultados del testigo BAT-1 de Bueno <i>et al.</i> , 2016.	89
Figura 52. Factor de enriquecimiento relativo (FER) calculado respecto del background de los sedimentos de Laguna de Rocha.	90
Figura 53. Factores de enriquecimiento global (GEF). En azul se muestran los GEF calculados a partir de los factores de enriquecimiento y en verde los calculados a partir de los factores de enriquecimiento relativo.	92
Figura 54. Resultados de los índices PLI (índice de carga contaminante) y mCd (grado de contaminación modificado). En el PLI se resalta en negrita los sitios de contaminación significativa (>1).	93
Figura 55. Resultados de los índices PLI (índice de carga contaminante) y mCd (grado de contaminación modificado) utilizando el punto de laguna de Rocha como sedimento de background.	93
Figura 56. Comparación de resultados de metales en sedimentos con valores de las guías de calidad de sedimentos (SQGs) para sedimentos de agua dulce y marinos. Resaltados en amarillo se marcan los valores por encima del TEL. Se resaltan en naranja valores por encima del ERL.	94
Figura 57. Factor de acumulación biota sedimento (BSAF) de metales para <i>Heleobia australis</i> .	95
Figura 58. Índice de contaminación metálica (MPI) para metales en <i>Heleobia australis</i> . La columna resaltada en verde no incluye el Cd y Hg en su cálculo.	96
Figura 59. Índices de contaminación metálica para <i>Heleobia australis</i> .	97
Figura 60. Análisis de correlación lineal de Spearman para la matriz ambiental reducida. Las elipses marcan una correlación $p < 0,05$ entre variables. Las correlaciones positivas están marcadas en azul y las negativas en rojo, ambas siguiendo gradiente de intensidad.	101
Figura 61. Análisis de componentes principales (ACP) de la matriz ambiental reducida. En el eje horizontal encontramos el PC1 marcado como componente 1 y en vertical el PC2 marcado como componente 2. El grupo 1 de sitios está marcado con elipse en verde, el grupo 2 en rojo y el grupo 3 en azul.	104
Figura 62. Análisis de componentes principales (ACP) de la matriz de índices de contaminación ambiental en sedimento y en <i>Heleobia</i> . En el eje horizontal encontramos el PC1 marcado como componente 1 y en vertical el PC2 marcado como componente 2. El grupo 1 de sitios está marcado con elipse en verde, el grupo 2 en rojo y el grupo 3 en azul.	105

## Lista de Tablas

Tabla 1. Lista de ensayos fisicoquímicos en muestras de agua, con sus métodos de análisis. ....	32
Tabla 2. Lista de ensayos fisicoquímicos en sedimentos con sus métodos de análisis.....	41
Tabla 3. Clasificación de factores de enriquecimiento de metales .....	56
Tabla 4. Grado de contaminación según el indicador <i>mCd</i> . ....	56
Tabla 5: Análisis de aniones en aguas (Nitrato, nitrito y sulfato) de cada sitio.....	63
Tabla 6. Distribución de tamaño de partícula de sedimentos agrupados por clases. ....	68
Tabla 7 Parámetros granulométricos de los sedimentos calculados de acuerdo con Folk & Ward, 1957.....	69
Tabla 8. Resultados de nutrientes en sedimentos. Se muestran los datos del fósforo total, y el nitrógeno total calculado a partir de la suma de los resultados de nitrógeno Kjeldahl, nitrato y nitrito, expresados en base seca. ....	74
Tabla 9. Resultados de los análisis de sulfato y de sulfuro en sedimento en base seca, para cada uno de los sitios de muestreo.....	76
Tabla 10. Resultados de la media, desvío estándar, mínimo y máximo de los metales analizados en sedimentos de la zona costera del Río de la Plata. Se incluyen los valores PEL y TEL (MacDonald <i>et al</i> , 2000).....	78
Tabla 11. Resultados de recuperación en estándares certificados de origen biológico.....	88
Tabla 12. Resultados de la media, desvío estándar, mínimo y máximo de los metales analizados en tejidos blandos de <i>Heleobia australis</i> .....	88
Tabla 13. Índice de carga contaminante ( $PLI_{Hel.}$ ) de metales, en <i>Heleobia australis</i> . Los valores de CF corresponden al factor de concentración de metales respecto de la concentración del <i>background</i> de Laguna de Rocha resaltada en verde. ....	98
Tabla 14. Resumen de correlaciones lineales significativas de la concentraciones de cada metal en <i>Heleobia australis</i> , con el resto de las variables ambientales. SED se refiere al sedimento y HEL a la matriz <i>Heleobia</i> .....	102

# 1- Introducción

## 1.1- Contaminación en ecosistemas estuarinos

Los estuarios son cuerpos de agua parcialmente cerrados donde se da la transición entre ambientes fluviales y marinos. Los ríos y arroyos que fluyen hacia el mar aportan un flujo de agua dulce, nutrientes y sedimentos mientras que el océano aporta agua salada, olas y mareas. Los ambientes estuarinos son ecosistemas dinámicos que se caracterizan por tener una mezcla cambiante de agua dulce y salada, y también muy ricos en nutrientes tanto en la columna de agua donde pueden estar suspendidos o disueltos, como en el sedimento donde se encuentran bajo forma de material particulado. A pesar de los problemas a los cuales se deben enfrentar los organismos por ser los estuarios ambientes tan cambiantes en cuanto a su salinidad y turbiedad entre otros, la vida en los estuarios es muy abundante siendo lugar de refugio, reproducción y cría para un gran número de especies (McLusky & Elliott, 2006).

Las áreas costeras son de gran importancia socioeconómica para los humanos ya que en ellos se da el asentamiento de las principales ciudades del mundo, concentrando más del 60% de la población mundial. Los servicios ambientales de los ecosistemas marinos representan un valor cercano al 63 % del valor total estimado de los servicios ecosistémicos planetarios (Costanza *et al.*, 1997). Los servicios ecosistémicos que brindan los estuarios se encuentran amenazados por elevadas cargas de contaminantes que son vertidos al estuario por el crecimiento de las actividades antrópicas (industrias, agricultura, comercio, aumento de población) a través de fuentes puntuales y difusas (FREPLATA, 2004).

Los estuarios se caracterizan por tener zonas donde se acumulan sedimentos muy finos y ricos en materia orgánica (McLusky & Elliott, 2006). Éstos actúan como sumidero para un gran número de contaminantes orgánicos e inorgánicos. Las concentraciones de metales y de compuestos orgánicos hidrofóbicos en los sedimentos son varios órdenes de magnitud mayores que las encontradas en el agua. En los frentes estuarinos (ej. donde ocurre el encuentro de los dos tipos de agua) generalmente se forman agudos gradientes de sedimento suspendido. Estos frentes tienden a inhibir el intercambio y a capturar los sedimentos finos y los efluentes dentro de masas de agua restringidas. El material particulado fino tiende a flocular por lo cual

se concentran los contaminantes asociados al sedimento en estas áreas. Los sedimentos finos se acumulan y sobre ellos se crean biofilms que también atraen y acumulan contaminantes y que además le aportan cohesividad a los sedimentos (McLusky & Elliott, 2006; Castiglioni *et al.*, 2018). Los organismos bentónicos están en estrecho contacto con el sedimento por lo cual están expuestos a un gran número de contaminantes en elevadas concentraciones respecto a las de la columna de agua. Los organismos bentónicos de baja movilidad como ser los bivalvos o los poliquetos son muy útiles para reflejar la contaminación local a la cual están expuestos, por lo que son de gran relevancia para ser usados en planes de biomonitoreo de la contaminación de ambientes estuarinos (Usero *et al.*, 2008; Muniz *et al.*, 2013). Los contaminantes presentes en sedimentos estuarinos pueden ser ingeridos junto con el sedimento por organismos bentónicos cuya forma de alimentación sea del tipo detritívora (depositívoros y sedimentívoros). Esos organismos se alimentan de depósitos de materia orgánica presentes en la superficie del sedimento (biofilm) y al mismo tiempo ingieren parte de ese sedimento (Luoma & Rainbow, 2008). Estos contaminantes presentes en los sedimentos no solo pueden causar efectos ecotoxicológicos directos sobre los organismos bentónicos, sino que pueden entrar en las cadenas alimenticias costeras afectando a peces, aves e incluso al hombre con el potencial de causar toxicidad. Es entonces de vital importancia comprender los mecanismos de bioacumulación de contaminantes en organismos bentónicos para poder evaluar el riesgo de toxicidad tanto para esos organismos como para los organismos que se alimentan directa o indirectamente de ellos (Kalman *et al.*, 2010; Castiglioni *et al.*, 2018).

## **1.2- Estuario del Río de la Plata**

El estuario del Río de la Plata está contenido en la cuenca del Plata. Es un cuerpo de agua extenso y poco profundo ubicado en la costa Este de Sudamérica entre 34°-36° S y 55°- 58° W. Representa el umbral entre el Océano Atlántico y la segunda cuenca fluvial más grande de América del Sur con una extensión de 3.100.000 Km<sup>2</sup>, integrada por las subcuencas de los ríos Paraguay, Paraná, Uruguay y la propia del río de la Plata (FREPLATA, 2004). El Río de la Plata se extiende 327 km desde su cabecera de 1,7 km de ancho, hasta su boca de 227 km de ancho, entre Punta Rasa (Argentina) y Punta del Este (Uruguay), presentando forma de embudo, con una superficie de 35.500 Km<sup>2</sup> en dirección Noreste a Sudeste (Guerrero *et al.*, 1997).

Los ríos Paraná y Uruguay aportan más del 97% del caudal fluvial del Río de la Plata. La descarga del Río de la Plata es en promedio 24.045 m<sup>3</sup>/s en el Océano Atlántico (Guerrero *et al.*, 2010). De esta descarga, el 78% corresponde al Río Paraná y el 22% restante al Río Uruguay. En el encuentro entre esta intensa descarga fluvial y las aguas marinas del Océano Atlántico se genera una extensa zona de mezcla de características mixohalinas (FREPLATA, 2004).

El Río de la Plata se puede dividir desde el punto de vista geomorfológico y dinámico, en una región interior y otra exterior, separadas por la presencia de una barrera geomorfológica llamada Barra del Indio. Ésta se extiende a lo largo de la línea que une Punta Piedras (en Argentina) con Montevideo (en Uruguay). En la región interior las profundidades son inferiores a 10 m mientras que en la exterior éstas varían entre 10-20 m (FREPLATA, 2004). La distribución de sedimentos superficiales de fondo presenta un claro gradiente a lo largo del eje principal del Río de la Plata. En el primer tramo del río correspondiente al Delta del Paraná se depositan los sedimentos más gruesos (arenas, arenas limosas, limos arenosos y limos). En el sector comprendido entre las líneas Colonia - Buenos Aires y Montevideo - Punta Piedras, predominan los sedimentos finos (limos, limos arcillosos y arcillas limosas). Las áreas de altas concentraciones de arcillas han sido atribuidas a floculación fisicoquímica en el área de Barra del Indio. El Río de la Plata exterior (entre Montevideo - Punta Piedras y Punta del Este - Punta Rasa) se caracteriza por un arco de sedimentos muy finos (limos, limos arcillosos, arcillas limosas y facies de mezcla) limitando un gran cuerpo arenoso que se extiende sobre la plataforma continental media y externa (FREPLATA, 2004).

La formación de un frente de salinidad con un gradiente horizontal marcado es una característica casi permanente a lo largo de la zona central y sur del Río de la Plata. Este frente salino puede romperse por la acción de vientos de más de 10 m/s soplando por más de 12 h. La restauración del frente salino es forzada por la presión generada por los gradientes horizontales de densidad entre las aguas marinas, el agua estuarina mezclada por el viento y el aporte de agua fluvial (Guerrero *et al.*, 2010).

La zona costera del Uruguay concentra cerca del 70% del total de la población del país. En esta estrecha franja coexisten lugares de destacado valor natural, con paisajes creados por el hombre con cierto grado de fragilidad y equilibrio dinámico (Fernández, 2005). El desarrollo humano, la expansión económica y la búsqueda de recursos generan impactos como la erosión costera, cambios en el uso de la tierra y

fertilización de las cuencas de drenaje, forestación con especies exóticas, expansión urbana e industrial, incremento de los aportes de y la utilización de agroquímicos. Las áreas costeras reciben cargas de contaminantes de origen urbano, industrial y agropecuario vertidos en su mayoría por efluentes (emisarios cloacales) y tributarios, viéndose restringida el área de impacto a una franja paralela a la costa no superior a los 2 km (FREPLATA, 2004). Todos estos impactos causan un marcado deterioro ambiental de los ecosistemas estuarinos y marinos poniendo en riesgo los servicios ecosistémicos que estos brindan (Brugnoli et al., 2007).

### **1.3- Contaminación por metales**

El ingreso de contaminantes al estuario puede darse de manera endógena (ej. actividades portuarias, navegación, poblaciones costeras del estuario, efluentes industriales) o exógena (ej., aportes fluviales). Los aportes endógenos pueden gestionarse con planes de manejo que respondan a las causas y consecuencias de las presiones sobre el estuario (ej. plan de saneamiento para ciudades costeras). Los aportes exógenos no pueden gestionarse en cuanto a las causas de las presiones sobre el estuario, pero si deben gestionarse las consecuencias (Elliott, 2011; Elliott *et al.*, 2017).

Entre los diferentes tipos de contaminantes que ingresan a los ecosistemas acuáticos, los metales pesados son muy importantes debido a su toxicidad y permanencia en el ambiente y los organismos (Jakimska *et al.*, 2011). Los metales pesados contenidos en el carbón, petróleo y en combustibles, son movilizados en los procesos de combustión y liberados a la atmósfera principalmente bajo forma de partículas las cuales pueden decantar e ingresar a los cuerpos de agua. También pueden ingresar al agua por fugas o derrames de combustibles (Vouk & Piver, 1983; Krzyzanowski, 2012). En nuestro país, los principales aportes fluviales de metales e hidrocarburos que ingresan al cuerpo principal del Río de la Plata corresponden al Río Paraná (Menéndez, 2002; FREPLATA, 2004). El mayor caudal del río y el grado de desarrollo económico en la cuenca del Paraná da lugar a que los aportes de carga sedimentaria y de potenciales contaminantes correspondientes al Río Paraná sean mucho más importantes que los del Río Uruguay (Menéndez, 2002). Los aportes fluviales de metales pesados al Río de la Plata correspondientes a los ríos Paraná y Uruguay fueron estimados en 102 t/día, representando el aporte del Río Uruguay un 20% (FREPLATA, 2004). Las concentraciones de metales pesados en los sedimentos superficiales del Río de la Plata interior y medio aumentan progresivamente hacia la

Zona de Máxima Turbidez, consistentemente con el transporte y sedimentación progresiva de partículas finas (FREPLATA, 2004; Marrero, 2016).

El Río de la Plata en las costas de Montevideo, recibe los aportes de arroyos receptores de efluentes industriales y domésticos (Pantanoso, Miguelete y Carrasco), así como descargas directas de la red de saneamiento, efluentes industriales y del emisario subfluvial de Punta Carretas (FREPLATA, 2004). La Bahía de Montevideo es la zona con mayor contaminación de la costa uruguaya. En estudios realizados en la Bahía de Montevideo, se han encontrado elevados niveles de contaminación por metales en sedimentos (principalmente cinc, plomo, cobre, cromo y en menor grado existe contaminación por níquel y plata) (Muniz *et al.*, 2004, 2011 y 2015). También se encontraron niveles de hidrocarburos alifáticos totales y PAH elevados en la zona de puerto, similares a niveles encontrados en otras zonas impactadas a nivel mundial (Muniz *et al.*, 2004, 2015; Venturini *et al.*, 2015). El origen de la contaminación se da principalmente por el vertido de múltiples descargas de efluentes industriales (que incluye la refinería de ANCAP) y por la desembocadura de dos arroyos altamente contaminados (Arroyo Pantanoso y Arroyo Miguelete) (Moyano, 1993). Existen dos zonas en el área costera de Montevideo que también presentan niveles de contaminación elevados, aunque por debajo de la Bahía de Montevideo: zona de Punta Carretas y zona de Punta Yeguas. En la zona de Punta Carretas se encuentra el emisario submarino del saneamiento de la zona Este de Montevideo. En la zona de Punta Yeguas recientemente se construyó un emisario submarino de similares características que concentra el sistema de saneamiento de las cuencas del Arroyo Pantanoso y Miguelete que vertían directo a la Bahía de Montevideo. En estudios realizados en la Bahía de Montevideo y zonas aledañas sobre la salud de los ecosistemas bentónicos, se clasificaron como moderadamente perturbadas las zonas de Punta Carretas y Punta Yeguas, mostrando deterioro en sus características bióticas (Muniz *et al.*, 2005, 2011). El Departamento de Montevideo concentra alrededor del 50% de las industrias y desde 1997 cuenta con un Plan de Reducción de la Contaminación Industrial para mejorar la calidad de las cuencas de los arroyos Miguelete, Pantanoso, Carrasco y la Bahía de Montevideo que se encuentran condicionadas por la presencia de un gran número de industrias. Se ha logrado mediante este plan una reducción del aporte del 94% para el plomo y del 70% para el cromo desde 1997 al 2006 (Informe GEO Uruguay, 2008).

Las cuencas de los tributarios que recibe el Río de la Plata al oeste y al este de Montevideo son menos industrializadas y pobladas, por lo que se presume que los aportes de contaminantes son menores que en Montevideo. De todas maneras, se

han observado niveles de Hg en sedimentos en la cuenca del Santa Lucía (Playa Penino) y en una playa del departamento de Colonia (Juan Lacaze) que indican un impacto en esas playas (García-Alonso *et al.*, 2017). Se analizaron los estados tróficos bentónicos de las zonas estuarinas del arroyo Pando, Solís Chico y Solís Grande no encontrándose diferencias significativas entre ellas a pesar del mayor desarrollo urbano e industrial en la cuenca del arroyo Pando (Spósito, 2015)

#### **1.4- Determinación de metales y bioacumulación.**

El contenido de metales pesados en los ambientes marinos se puede medir en aguas, sedimentos y en biota. Las concentraciones de metales disueltos en agua son en general muy bajas (cercanas a los límites de detección de las técnicas analíticas) y muy variables por cambios en los ciclos de marea, descarga de agua dulce de los ríos, estacionalidad, etc. (Rainbow, 1995). La medida de metales pesados en sedimentos no presenta muchas de las desventajas de los metales disueltos: 1) los metales se acumulan en sedimentos por lo que las concentraciones son mayores facilitando su análisis, 2) son menos sensibles a cambios ambientales dando además una idea temporal de la concentración de metal que ingresó al sistema en un determinado período de tiempo. Por otro lado, la acumulación de metales en sedimentos es afectada en gran medida por las características de los sedimentos que varían geográficamente no solo en su distribución de tamaño de partículas sino en su contenido de materia orgánica y mineralogía (Rainbow, 1995).

La bioacumulación de metales en organismos bentónicos depositívoros depende de la concentración de metales en sedimentos, el fraccionamiento geoquímico de cada metal en ese sedimento y las formas de digestión de cada organismo bentónico (Dang *et al.*, 2012; Castiglioni *et al.*, 2018). Los biomonitores pueden ser usados para medir la contaminación relativa de los ambientes, ya que son organismos que acumulan contaminantes de manera proporcional a su biodisponibilidad en el ambiente (Rainbow, 1995). La concentración de contaminantes en el organismo se puede comparar con la concentración en el sedimento. Esta relación puede cuantificarse por el factor de acumulación biota-sedimento (BSAF), que es la relación entre la concentración de contaminantes en los tejidos del organismo y la de los sedimentos circundantes. El resultado del BSAF para cada metal nos permite evaluar la capacidad bioacumuladora de una especie según el siguiente criterio: valores  $BSAF > 2$  son clasificados como macroconcentradores, valores  $1 < BSAF < 2$  son

microconcentradores y valores  $< 1$  son desconcentradores (Usero *et al.*, 2005; Berandah *et al.*, 2010).

Los monitoreos ambientales deben aportar suficientes datos para un análisis confiable de las tendencias a largo plazo de las concentraciones de contaminantes en las diferentes matrices ambientales. Estos datos son esenciales para medir el impacto de las actividades antropogénicas sobre el ambiente, verificar que los niveles de contaminación existentes no aumenten o bien medir las acciones tomadas para restaurar ambientes acuáticos impactados (Solaun *et al.*, 2013). Para ello es importante la selección del organismo a utilizar para que sea un adecuado bioindicador de la contaminación ambiental (Muniz *et al.*, 2013).

En el presente trabajo se utiliza una especie nativa de organismo bentónico para evaluar su potencial para bioacumular metales a fin de ser usado como bioindicador de contaminación ambiental. La especie seleccionada es el gasterópodo *Heleobia australis* (d'Orbigny, 1835), perteneciente a la subclase Caenogastropoda, familia Cochliopidae, género *Heleobia*.

*Heleobia australis* es un gasterópodo intermareal/submareal somero característico de ambientes protegidos de la acción directa del mar, como estuarios y lagunas costeras. Se distribuye desde Río de Janeiro (Brasil, 22°S) hasta el noreste de la Patagonia Argentina (40° S) (Fiori, 2011). *H. australis* exhibe una gran plasticidad fenotípica, ajustando sus características vitales a las condiciones ambientales en las que se desarrollan sus poblaciones. Este gasterópodo genera un interés adicional por su uso potencial como bioindicador, ya que algunos cambios de sus parámetros poblacionales y rasgos biológicos (por ejemplo, la talla máxima) pueden ser provocados por alteración de los factores bióticos y abióticos de los ecosistemas acuáticos donde habita (Fiori, 2011). El gasterópodo *H. australis* es uno de los organismos más abundantes y frecuentes en los fondos blandos del Río de la Plata (Muniz *et al.*, 2006, 2012; Giménez *et al.*, 2014). Es un organismo detritívoro superficial por lo que se alimenta del microfitorobentos y de otros depósitos de materia orgánica presentes en la superficie del sedimento razón por la cual se estima que el potencial de bioacumular contaminantes debería de ser elevado. En los ambientes pocos antropizados, como las lagunas costeras del este del país, las mayores densidades de *H. australis* se dan en sedimentos con menos de un 20% de fango (limo y arcilla) prefiriendo sustratos con arena media y fina (Giménez *et al.*, 2006). En contraposición,

en la costa de Montevideo y sub-estuarios de la costa de Canelones es el organismo dominante por excelencia, habitando sustratos dominados por limos y arcillas (Muniz & Venturini, 2001; Muniz *et al.*, 2006). En un análisis de la cadena trófica realizado en la laguna de Rocha, *Erodona mactroides* y *Heleobia australis* fueron los más representativos de los consumidores primarios, siendo las dos especies bentónicas con mayor biomasa (34 y 15 % de la biomasa total (Milessi, 2010). *H. australis* es de gran importancia en la estructura de las cadenas tróficas de la laguna de Rocha actuando como un nexo entre niveles bajos de la cadena trófica como ser el microfitobentos y la meiofauna bentónica y niveles altos de la cadena trófica. A su vez, *H. australis* es predado por cangrejos y varios tipos de peces incluido el depredador tope *Paralichthys orbignyanus* (lenguado) (Milessi, 2010; Magnone *et al.*, 2015). Las marcadas diferencias de tamaño de los organismos presentes, así como aspectos de daño a nivel de ADN en la Bahía de Montevideo respecto a zonas menos impactadas como son las lagunas de Rocha y Garzón (Hutton, 2011; Villar *et al.*, 2015), indican un mayor estrés de los organismos de la Bahía de Montevideo.

## **2- Objetivos**

### **2.1- Objetivo principal**

Como objetivo del presente trabajo se busca estudiar el potencial de bioacumulación de metales en un organismo bentónico ampliamente distribuido a lo largo de buena parte del Río de la Plata: *Heleobia australis*.

Para ello se puso a punto una técnica para la extracción y medida de metales en las partes blandas de *H. australis*. La medida de los diferentes metales se realizó por ICP-SFMS luego de una extracción ácida por microondas.

### **2.2- Objetivos específicos**

Analizar el contenido de metales en *H. australis* en distintos puntos a lo largo de la costa uruguaya con marcadas diferencias en los niveles de metales en sedimentos. Esto en conjunto con los análisis en cada punto del contenido de metales en sedimentos y los parámetros fisicoquímicos en agua y sedimentos, nos aporta información acerca de las posibles correlaciones entre la contaminación ambiental por metales y el potencial de acumulación de *H. australis*. Se seleccionaron como puntos de muestreo las playas de la Bahía de Montevideo, Punta Carretas, Punta Yeguas y

playa del Puerto del Buceo, así como el estuario del arroyo Solís Grande y la laguna de Rocha.

Determinar la concentración de cada metal en los sedimentos en cada uno de los sitios. Se calcula para cada uno de ellos el factor de enriquecimiento (FE) para ponderar por el contenido de metales naturalmente presentes en el sedimento.

Con los resultados obtenidos se puede establecer la factibilidad de utilizar esta especie nativa como bioindicador de contaminación ambiental por metales.

### **3- Hipótesis de trabajo**

Como una primera hipótesis, sería esperable encontrar mayores concentraciones de metales en los organismos de la Bahía de Montevideo, seguido por las zonas aledañas a la Bahía (Punta Yeguas y Punta Carretas), seguidas por Puerto del Buceo y un menor contenido en las zonas de la desembocadura del arroyo Solís Grande y Laguna de Rocha. Como segunda hipótesis sería esperable que *H. australis* sea catalogada para la mayor parte de los metales y para todos los sitios como una especie micro o macro concentradora de metales se acuerdo con resultados de los factores de bioacumulación sedimento-biota (BSAF) obtenidos.

## 4- Materiales y métodos

### 4.1- Área de estudio

Se seleccionaron los siete sitios de estudio de acuerdo con los antecedentes en cuanto a contaminación por metales y a la presencia del organismo *Heleobia australis*. Al no disponer de la posibilidad de realizar los muestreos embarcados por el contexto de la pandemia de covid-19, también se seleccionaron puntos que pudieran ser relativamente accesibles (en determinadas condiciones climáticas) para realizar el muestreo en la zona intermareal de playas.

En la Bahía de Montevideo se definió un punto frente a la salida del Arroyo Pantanoso y otro al costado del Estadio Olímpico. Se definieron dos puntos donde se dan las descargas de los dos emisarios submarinos de Montevideo: al este de la Bahía de Montevideo una playa de Punta Carretas y al oeste una playa de Punta Yeguas. Se elige dentro de la costa de Montevideo una playa del Puerto de Buceo por antecedentes de contaminación y debido a la actividad portuaria en sí (Figura 1).

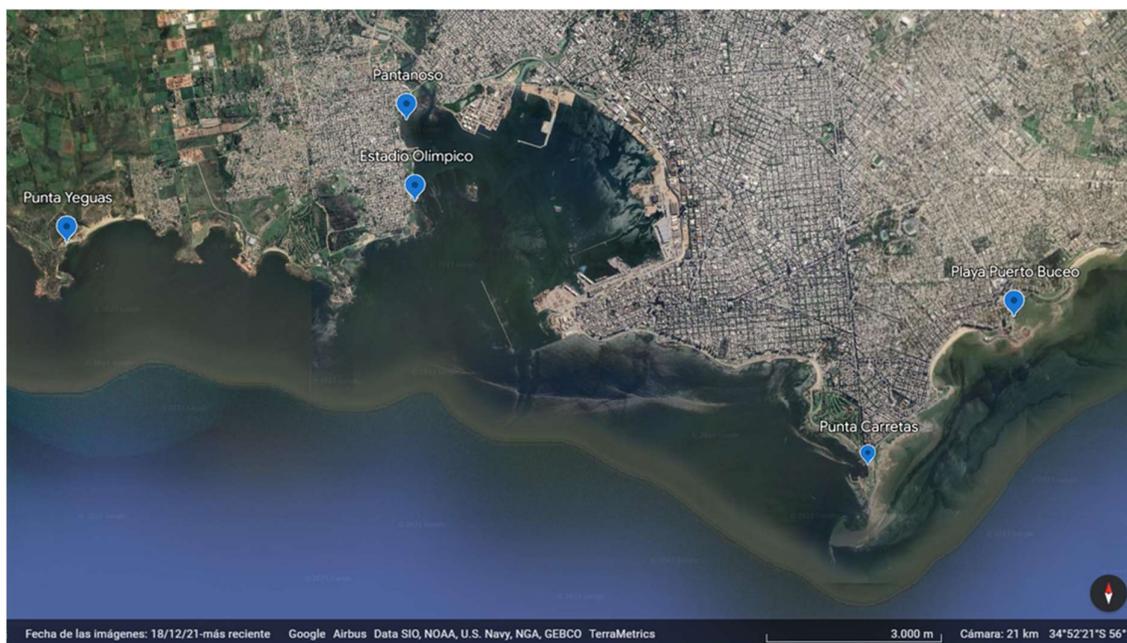


Figura 1. Ubicación de los cinco sitios de muestreo de la costa de Montevideo (tomado de Google Earth).

Finalmente se eligieron dos sitios que a priori presentaban una menor contaminación por metales: Laguna de Rocha y desembocadura del arroyo Solís Grande (Figura 2).

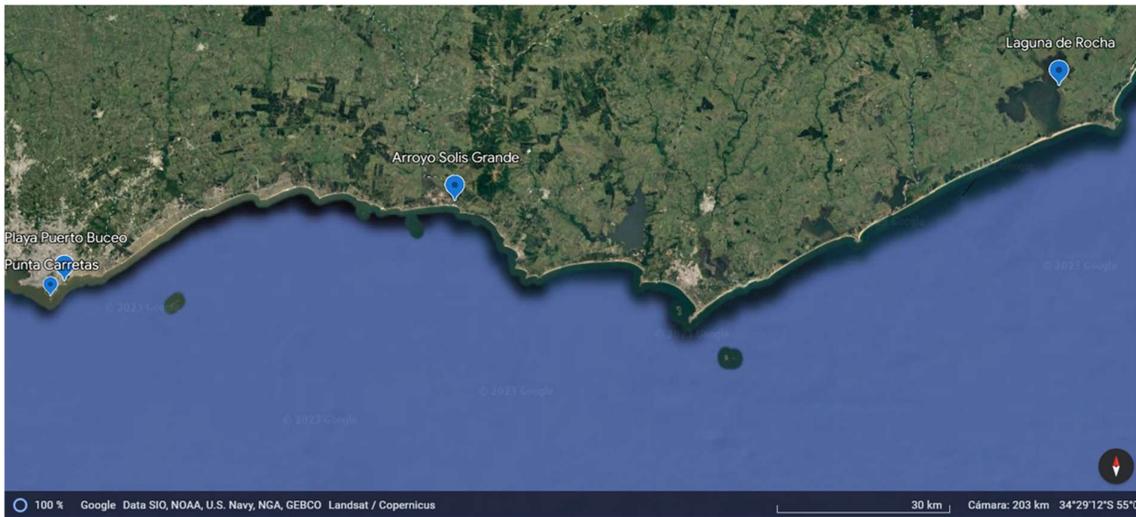


Figura 2. Ubicación de los sitios de muestreo de arroyo Solís Grande y Laguna de Rocha respecto a los dos sitios más al este de Montevideo (tomado de google earth).

#### 4.1.1- Bahía de Montevideo

La Bahía de Montevideo cubre un área de 12 Km<sup>2</sup>, con profundidades medias de 5 m excepto en los canales de navegación donde la profundidad oscila entre 9 y 11m (Figura 3). Geológicamente, la bahía se caracteriza por la presencia de afloramientos del Precámbrico y en algunas regiones de materiales más recientes derivados de ellos, los cuales pertenecen a la Formación Libertad-Zona Norte. Los sedimentos modernos están constituidos por limo y arcilla. La circulación del agua dentro de la bahía es en sentido horario, determinada por los vientos que soplan predominantemente de NE y WSW. (Muniz *et al.*, 2004).



Figura 3. Bahía de Montevideo (tomado de Google Earth).

La Bahía de Montevideo recibe los aportes de arroyos receptores de efluentes industriales y domésticos (Pantanosos y Miguelete), así como descargas directas de la red de saneamiento y efluentes industriales (FREPLATA, 2004). En la bahía se encuentra la refinería de petróleo de ANCAP, el muelle de La Teja donde se ejecuta la carga y descarga de los navíos petroleros, la Central Térmica Batlle (UTE) y el Puerto de Montevideo. El puerto de Montevideo se encuentra localizado en la parte SE de la Bahía de Montevideo. El dragado de los canales es una actividad frecuente y los sedimentos dragados son vertidos en el Río de la Plata a una distancia de pocos kilómetros del puerto de Montevideo (Muniz *et al.*, 2004).

Actualmente se están llevando a cabo dos obras importantes en la zona portuaria: la Terminal Pesquera Puerto Capurro y la terminal de carga de celulosa. El proyecto de la terminal pesquera cubre un área terrestre de 10 hectáreas en las cuales se ubicarán los sectores de servicios necesarios para las actividades y la logística portuaria para la pesca, la carga y el almacenaje en contenedores refrigerados. El canal de acceso tendrá un calado a 7 metros de profundidad y la terminal permitirá el atraque de 35 buques de hasta 40 m de eslora o 15 de entre 90 y 124m. La obra supone un dragado de aproximadamente 1,4 millones de m<sup>3</sup> y la reutilización de unos 0,3 millones de m<sup>3</sup> para el relleno de la isla donde se asentarán los muelles. El mantenimiento del canal de acceso supone un dragado anual de 250000 m<sup>3</sup> (ANP, 2021). La Terminal Portuaria Especializada en Celulosa es un proyecto que posibilita la descarga directa de celulosa hacia los buques a través de una conexión ferroviaria. Implica la construcción de muelles de 14,5 m de profundidad para posibilitar el ingreso de los buques. El proyecto incluye además un edificio techado de 50000 m<sup>2</sup> para el almacenamiento de la celulosa y la construcción de tanques de almacenamiento de combustible, ácido sulfúrico y soda para proveer a la planta de celulosa.

Se seleccionaron dos puntos de la Bahía: Pantanosos (34° 52' 42" S, 56° 14' 47" W) y Estadio Olímpico (34° 53' 24" S, 56° 14' 40" W) (Figura 4).

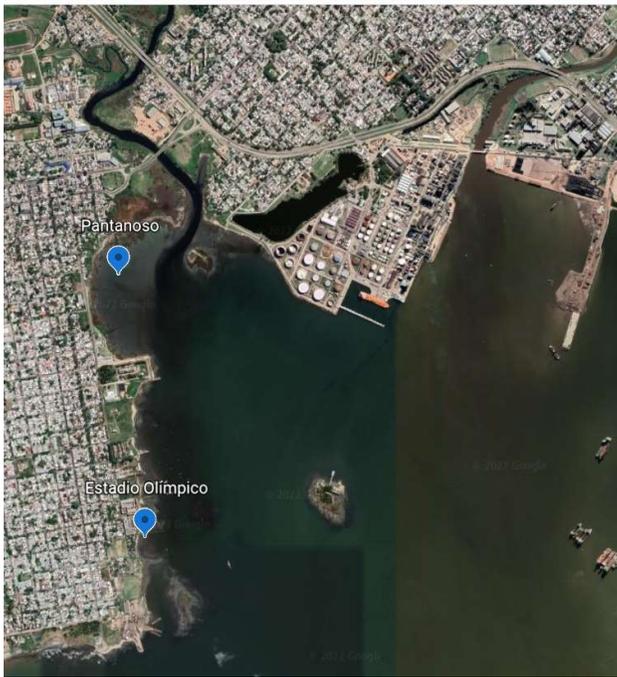


Figura 4. Sitios de muestreo en Bahía de Montevideo (tomado de Google Earth).

El muestreo se realizó en verano de 2020-2021 luego de dos días de intenso viento norte que permitía el acceso al punto del Pantanosos que era el más dificultoso para muestrear. Para realizar el muestreo en el sitio del Estadio Olímpico se accedió bordeando el predio al norte del sitio, por el lado este y pasando por arriba del caño vertedero de la calle Francia (Figura 5).



Figura 5. Sitio de muestreo Estadio Olímpico (tomado de Google Earth).

El muestreo en el sitio Pantanoso se realizó accediendo a pie por el camino de tierra al norte del sitio aprovechando la gran bajante del agua que puede observarse en la Figura 6.

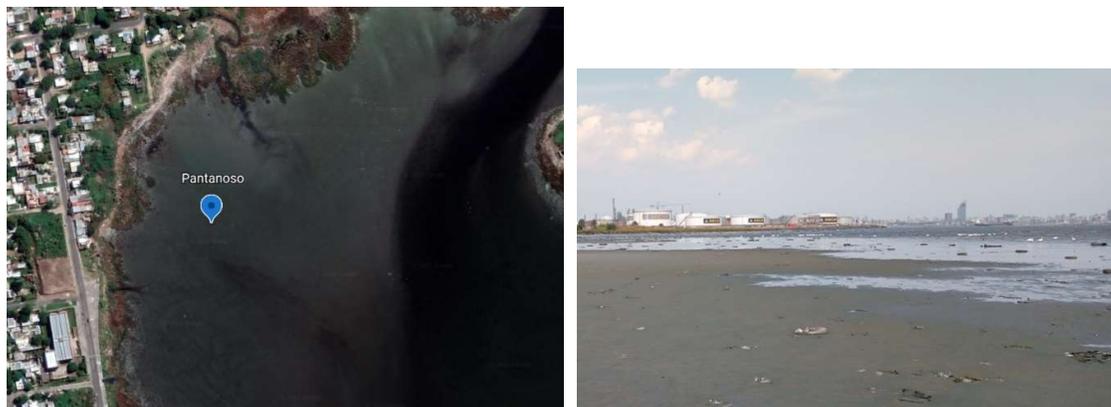


Figura 6. Sitio de muestreo Pantanoso (tomado de Google Earth).

#### **4.1.2- Punta Carretas y Punta Yeguas**

Al este de la Bahía de Montevideo se encuentra la zona de Punta Carretas. Allí se encuentra un emisario submarino del saneamiento de Montevideo. El vertido se da a 2300 m de la costa y las obras fueron realizadas entre 1983 y 1991. Inicialmente la obra incluyó un interceptor a lo largo de la costa este de 10 Km de longitud, con cuatro estaciones de bombeo intermedias: Punta Gorda, Colombes, Buceo y Punta Carretas. En una segunda etapa se realizaron mejoras en el funcionamiento de los sistemas de bombeo de la zona noreste de la ciudad y la construcción del interceptor Ciudad Vieja – Punta Carretas (IMM, 2012).

En la zona de Punta Yeguas, al oeste de la Bahía de Montevideo, se construyó un emisario submarino de similares características al de Punta Carretas. Cuando esté en funcionamiento total concentrará el sistema de saneamiento de las cuencas del Arroyo Pantanoso y Miguelete y de los barrios Cerro y Casabó que actualmente vierten directo a la Bahía de Montevideo, que equivalen al 44% de los efluentes de Montevideo. Además, recibirá a las aguas residuales de las redes de La Paz y Las Piedras, del departamento de Canelones. Estas aguas son impulsadas a través de las seis estaciones de bombeo -Miguelete, Intermedia, La Teja, Belvedere / Victoria, Casabó y Cerro, hacia la Planta de pretratamiento. La obra incluye la Planta de

pretratamiento de Punta Yeguas (IMM, 2020). Este pretratamiento consiste en rejas, desarenadores y tamices que permiten retirar los residuos sólidos de las aguas residuales. Los residuos retirados en los procesos serán acondicionados mediante compactadores y deshidratadores de arena para ser transportados y dispuestos en el Sitio de Disposición Final de Residuos de la ciudad. Además, la planta cuenta con un tratamiento biológico de gases, que permite evitar los olores molestos liberados por las aguas residuales recibidas y proteger los equipos instalados (Figura 7).

Cuando el Sistema de Disposición Final funcione en su totalidad beneficiará a 670.000 personas de Montevideo y a 100.000 más de La Paz y Las Piedras (IMM, 2012).

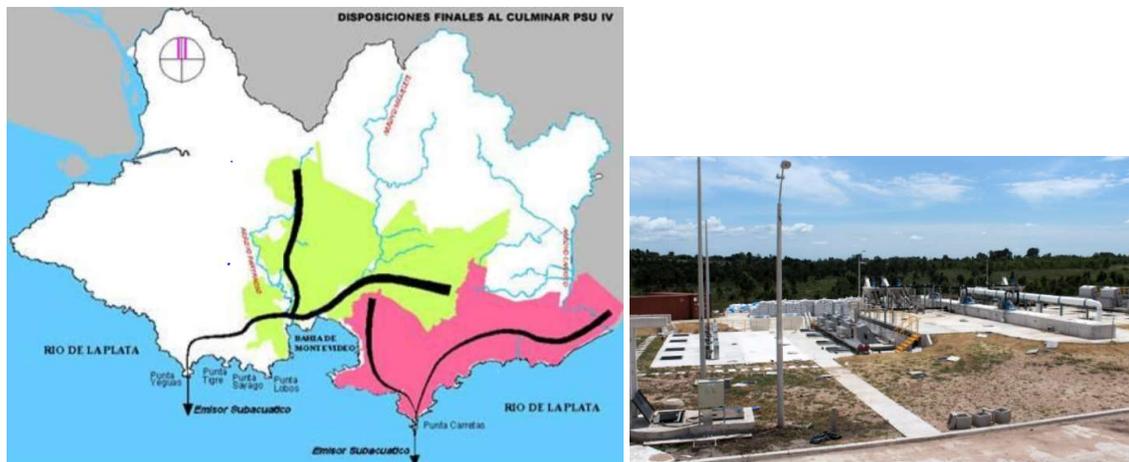


Figura 7. Disposiciones finales al culminar el Plan de Saneamiento Urbano en su etapa IV (PSU IV). A la derecha Planta de Tratamiento de Efluentes de Punta Yeguas.

El sitio de muestreo de Punta Yeguas ( $34^{\circ} 53' 42''$  S,  $56^{\circ} 18' 35''$  W) se muestra en la Figura 8. El muestreo se realizó en verano de 2020-2021 sobre el margen oeste de la playa, cerca de las rocas.

El sitio de muestreo de Punta Carretas ( $34^{\circ} 55' 51''$  S,  $56^{\circ} 09' 37''$  W) se muestra en la Figura 9, realizándose el muestreo a principios de otoño de 2021.



Figura 8. Sitio de muestreo en playa de Punta Yeguas (tomado de Google Earth).



Figura 9. Sitio de muestreo en playa de Punta Carretas (tomado de Google Earth).

#### 4.1.3- Puerto del Buceo

El Puerto del Buceo es un puerto deportivo y turístico emplazado en una pequeña bahía ubicada en un extremo del barrio de Montevideo del Buceo, cerca del barrio Pocitos. En estudios previos se obtuvieron concentraciones elevadas de cinc (55 mg/Kg) (García-Alonso *et al*, 2017). Durante el año 2020 se desarrollaron tareas de dragado en el Puerto del Buceo para llevar a una profundidad de 3m (YCU, 2021)

El sitio de muestreo del Puerto del Buceo (34° 55' 30" S, 56° 07' 59" W) se muestra en la Figura 10. Existen dos payas en la bahía del Puerto del Buceo. El muestreo se realizó en principios de otoño de 2021 cerca de las rocas en el punto norte de la playa ubicada más al sur.



Figura 10. Sitio de muestreo en playa del Puerto del Buceo (tomado de Google Earth).

#### 4.1.4- Arroyo Solís Grande

El arroyo Solís Grande (34°47'S, 55°23'W) es un arroyo que nace en el departamento de Lavalleja y desemboca en el Río de la Plata marcando el límite entre los departamentos de Canelones y Maldonado. Es el segundo estuario en tamaño en la costa uruguaya con una cuenca de 1409 Km<sup>2</sup>, una profundidad media de 2,0 m y una descarga anual promedio de 145 m<sup>3</sup>s<sup>-1</sup> (Gómez-Erache *et al.*, 2000). Desde las nacientes hasta su desembocadura, cruza perpendicularmente a la línea de costa, una extensión de 90 Km. La desembocadura del arroyo Solís Grande hacia el Río de la Plata se da a través de una barra arenosa que está permanentemente abierta. En los últimos 10 Km antes de la desembocadura el arroyo se ensancha por el aporte de cursos de agua no permanentes que drenan de zonas pantanosas (Muniz & Venturini,

2001). El arroyo Solís Grande tiene poco desarrollo urbano en sus márgenes por lo cual tiene bajo impacto antropogénico (Defeo *et al.*, 2009).

El sitio de muestreo Arroyo Solís Grande (34° 47' 15" S, 55° 23' 41" W) se definió en cercanías de pilotes de un antiguo muelle (Figura 11) ya que allí había un parche importante de *Heleobia australis* que no se había encontrado en otros puntos del margen oeste del arroyo. El muestreo se realizó a principios del verano 2020-2021



Figura 11. Sitio de muestreo en playa del margen oeste del Arroyo Solís Grande (tomado de Google Earth).

#### 4.1.5- Laguna de Rocha

La laguna de Rocha es una laguna costera, somera (profundidad media de 0,6m) localizada en la costa atlántica del este de Uruguay (34°38'S, 54°17'W) Tiene una extensión de 72 Km<sup>2</sup> y está conectada al océano atlántico, a intervalos irregulares, a través de una apertura (barra de arena) al sur. Esta apertura permite la migración de muchas especies incluyendo el lenguado (*P. orbignyanus*) y genera un gradiente de salinidad en la dirección norte sur (Magnone *et al.*, 2015). En la laguna se ha observado un reciente incremento del proceso de eutrofización, en el período 1987 - 2000 donde se han producido eventos de floraciones de cianobacterias potencialmente tóxicas en 2003 y 2005 (Informe GEO, 2008). Esto está probablemente relacionado a un cambio del uso del suelo en la cuenca con aumento de actividades agrícolas, más intensivas y cercanas a la laguna, posible efecto acumulativo del aporte del saneamiento de la ciudad de Rocha con tratamiento insuficiente, urbanización en la barra arenosa y alteraciones en la dinámica natural de apertura de la barra arenosa (Informe GEO, 2008).

El sitio de muestreo de Laguna de Rocha ( $34^{\circ} 36' 20''$  S,  $54^{\circ} 15' 25''$  W) fue elegido en ese lugar por ser una pequeña playa arenosa con una gran abundancia de *Heleobia australis* (Figura 12). En pruebas preliminares se había elegido un punto cerca de los pescadores artesanales más al sur. Al ser el objeto de este sitio de muestreo, marcar las relaciones entre concentración de metales en sedimentos y biota en un ambiente poco impactado, se optó por elegir un punto más alejado de los pescadores. El muestreo se realizó en primavera de 2021.

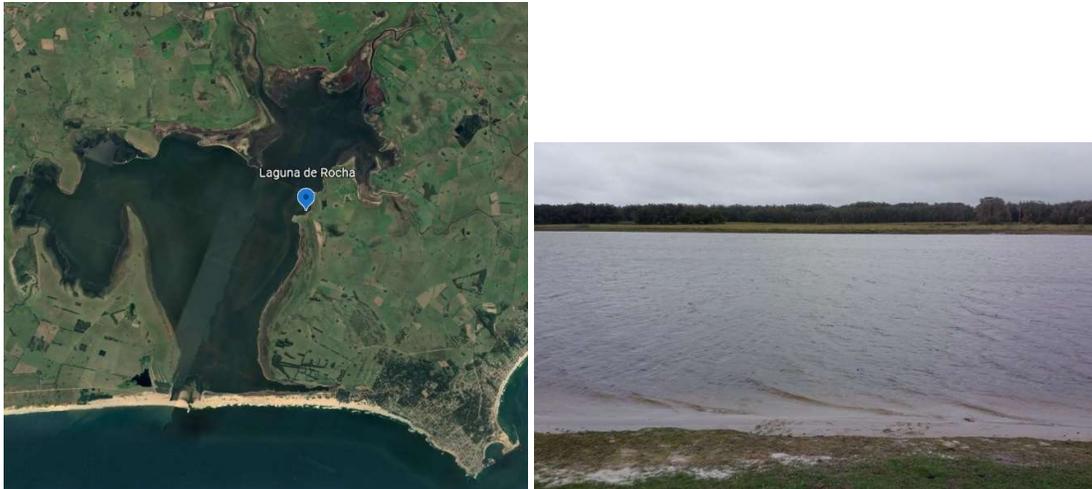


Figura 12. Sitio de muestreo en Laguna de Rocha (tomado de Google Earth).

## 4.2- Toma de muestras

### 4.2.1- Muestreo de sedimentos

Se colectaron sedimentos en cada uno de los puntos de muestreo con un corer de plástico transparente de 5 cm de diámetro y 25 cm de largo con tapas en sus extremos para hacer vacío. El corer se trató con ácido nítrico previo al muestreo, enjuagándose con agua ultrapura. Se identificó en primer lugar un sitio donde se pudieran colectar *Heleobia australis*. Para ello con una pala plástica se sacaron los primeros 5 cm de sedimento y se colocaban en tamiz de malla plástica de 0,5 mm de apertura. Por tamizado en el agua del sitio, se observaba la presencia de organismos vivos en el tamiz (los organismos vivos tienen la concha de color gris oscuro a marrón, mientras que cuando mueren se vuelven gris claro o blancos). Cuando se confirmó la presencia de *Heleobia*, se definieron 5 puntos alrededor de donde se encontraron los organismos en un círculo de no más de 3 o 4 m de diámetro donde se tomaron con corer las muestras de sedimento. Con el corer se sacaron probetas de sedimentos de

unos 10 a 15 cm que se colocaron en una bandeja de plástico para luego sacar la fracción correspondiente al primer centímetro con espátula plástica para el análisis de metales y granulometría. Esa fracción superior del sedimento se colocó en tubos falcon etiquetándose las 5 réplicas para el análisis de metales. Se repitió el procedimiento para lograr sacar un volumen de muestra suficiente para los análisis fisicoquímicos de los dos primeros centímetros de sedimento. El sedimento para los ensayos fisicoquímicos se colocó en doble bolsa de plástico rotulándose con la identificación del sitio y los análisis a realizar. Se definen los dos primeros centímetros del sedimento para el caso de los ensayos fisicoquímicos para obtener mayor cantidad de muestra para los análisis y por el hecho de que en algunos sitios no resultó sencilla la separación de las fracciones superiores del sedimento. En el sitio de la Bahía de Montevideo Estadio Olímpico, en el Arroyo Solís Grande y en el sitio de Laguna de Rocha, la fracción superior del sedimento es muy liviana por lo que al sacar los corer hacia la bandeja, las probetas de sedimentos no quedaban tan firmes ni conservaban del todo la forma cilíndrica por lo que se dificultaba la separación de las fracciones superiores. De todos modos, se pudieron sacar las muestras para metales del primer centímetro de muestra tomando con espátula de forma paralela a la superficie superior de la probeta. Entre cada una de las sacadas de corer en esos sitios se esperaban unos minutos para que el material que se resuspendía en el agua fuera arrastrado o depositado de nuevo antes de repetir la operación.

Las 5 réplicas de sedimento para metales se almacenaron en freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$  con temperatura controlada de forma continua hasta el momento donde se mandaron a liofilizar. Las muestras de sedimento para los análisis fisicoquímicos se almacenaron en heladera con temperatura controlada de forma continua (software Surview).

#### **4.2.2- Obtención de organismos**

En cada sitio de muestreo se colectaron muestras de sedimentos de la zona intermareal para la posterior obtención de organismos bentónicos. En algunos sitios los organismos pudieron separarse en el lugar por tamizado a través de tamiz de malla plástica de 0,5 mm del sedimento con agua del sitio agitando el tamiz bajo el agua (Arroyo Solís y Punta Yeguas). Los organismos colectados de ese modo fueron colocados en tubos Falcon previamente tratados con ácido nítrico y debidamente rotulados. A la llegada al laboratorio se colocaron en el freezer a  $-18^{\circ}\text{C}$ .

En los restantes sitios la separación y colecta de los organismos no fue posible por temas climáticos, por dificultades con las muestras o bien por poca disponibilidad de tiempo. En estos casos se colectaron dos bolsas llenas de sedimento, colocándolas en doble bolsa de nylon con un poco del agua del punto de muestro para luego en el laboratorio separar *H. australis*. Se toma un bidón de agua adicional del sitio para facilitar luego la extracción en el laboratorio. En el laboratorio se colocaron porciones del sedimento en bandejas de plástico previamente tratadas con ácido nítrico con un poco de agua del sitio. Se esperan unos 10 a 15 min y los organismos vivos se hacen mucho más visibles y fáciles de colectar ya que crean patrones de desplazamiento en el sedimento. Se repite este procedimiento hasta obtener la cantidad de organismos necesaria y si es necesario se puede tamizar del mismo modo que se realizó en el propio sitio de muestreo por tamiz de malla 0,5 mm. Los organismos colectados se colocaron en tubos Falcon previamente tratados con ácido nítrico y debidamente rotulados. Una vez aislados los organismos se congelan en freezer a -20°C con temperatura controlada de forma continua (software Surview). Previo a liofilizar las muestras para la extracción de los tejidos blandos para los análisis de metales, se enjuagan las *Heleobia australis* cinco veces con agua ultrapura para remover restos de sedimentos de los organismos. Si es necesario se cambian de frasco Falcon tratado previo a liofilizar.

En Laguna de Rocha no se aislaron los organismos in-situ porque el tamiz se saturaba fácilmente debido a la granulometría del sedimento. Un caso similar se dio en Punta Carretas y Puerto del Buceo donde la presencia de grava retrasaba el muestreo y se priorizó la estabilidad de las muestras de agua y sedimento, dejándose la parte de la separación de los organismos en laboratorio. En los casos de los sitios del Estadio Olímpico y Pantanoso, el no aislar los organismos en el sitio se debió a factores climáticos que hicieron subir la marea rápidamente al cambiar la dirección del viento por lo que no se tenía mucho tiempo para poder sacar todas las muestras, en particular las del Pantanoso que son las más difíciles para poder acceder a pie.

### 4.2.3- Muestreo de Agua

En cada uno de los sitios de muestreo se tomaron muestras de agua de fondo para análisis fisicoquímicos. La toma directa se realiza luego de haber identificado que el sitio contenía Heleobias. Se esperan 10 minutos antes de tomar las muestras para que el material resuspendido del tamizado para identificación de los sitios de muestreo de Heleobia sea arrastrado por la corriente o vuelto a depositarse para no afectar los resultados de los parámetros fisicoquímicos del agua. Se tomó un bidón de 10 litros de cada uno de los puntos y una botella de 2 L. Adicionalmente se sacó un bidón de agua extra para los sitios donde no se pudo separar los organismos del sedimento para facilitar la separación en el laboratorio. Las muestras se almacenan en heladera con temperatura controlada de forma continua.

### 4.3- Análisis de agua.

Las muestras de agua se almacenaron en heladera con controlador continuo de temperatura. De la lista de análisis presentados en la Tabla 1 los parámetros más lábiles son el pH, el oxígeno disuelto, clorofila y nitrito. Oxígeno disuelto, pH y nitritos deben de hacerse en el día. Para el caso de clorofila se puede congelar el extracto luego de haber culminado la fase de extracción)

Tabla 1. Lista de ensayos fisicoquímicos en muestras de agua, con sus métodos de análisis.

<b>Tabla de ensayos fisicoquímicos en muestras de agua</b>		
<b>Punto</b>	<b>Análisis</b>	<b>Método de ensayo</b>
4.3.1	pH	PEC.PQAR.601 basado en Standard Methods 4500-H.
4.3.2	Turbiedad	PEC.PQAR.609 basado en Standard Methods 2130-B.
4.3.3	TOC	PEC.PQAR.605 basado en ISO 8245:1999.
4.3.4	Clorofila	ISO 10260:1992.
4.3.5	Conductividad	PEC.PQAR.112 basado en Standard Methods 2520-B.
4.3.6	Oxígeno disuelto	ISO 5814:1990
4.3.7	Nitrógeno total	PEC.PQAR.606 basado en ISO 11905-2:1997.
4.3.8	Nitrato	PEC.PQAR.113 basado en ISO 10304-1:2007 (Cromatografía de Iones).
4.3.8	Nitrito	PEC.PQAR.113 basado en ISO 10304-1:2007 (Cromatografía de Iones).
4.3.8	Fósforo soluble	PEC.PQAR.113 basado en ISO 10304-1:2007 (Cromatografía de Iones).
4.3.9	Fósforo total	QuikChem® Method 31-115-01-3-D

#### **4.3.1-pH.**

La intensidad del carácter básico o ácido de una solución viene indicada por el pH (a una temperatura determinada), y por ello, por la actividad del ión hidrógeno. El principio básico de la medición electrométrica del pH es una determinación de la actividad de los iones hidrógeno por medio de una medida potenciométrica utilizando un electrodo estándar de hidrógeno y un electrodo de referencia. Se emplea el electrodo combinado de vidrio. La fuerza electromotriz producida en el electrodo varía linealmente con el pH. Se puede entonces graficar esta dependencia midiendo el pH de diferentes soluciones tampón y determinando el pH por interpolación.

El electrodo de vidrio está relativamente libre de interferencias en cuanto al color, turbiedad, sustancias coloidales, oxidantes, reductores, alta salinidad. La temperatura afecta las medidas por cambios mecánicos en el electrodo y por cambios en los equilibrios químicos, lo cual provoca derivas. Por esto se debe especificar la temperatura de medida del pH.

El método de medida utilizado es el método interno de LATU PEC.PQAR.601 basado en el Standard Methods for the Examination of Water and *Wastewater*, 22<sup>nd</sup> ed., 2012, 4500-H<sup>+</sup>. Se utiliza el pHmetro marca Fisher Scientific modelo accumet XL250. Para la calibración se usan buffers 4,00; 6,00; 7,00; 8,00 y 9,00 marca Merck y se verifica la calibración del equipo con el buffer adecuado según el rango de calibración utilizado al inicio, cada 10 muestras y al final de las mediciones. Cada muestra se mide tres veces y el tercer valor es el resultado que no puede apartarse más de 0,03 unidades de pH de la segunda réplica. Entre réplicas no se enjuaga el electrodo con agua ultrapura, solo entre muestra y muestra que se enjuaga y seca con papel tissue.

#### **4.3.2-Turbiedad.**

La turbiedad es la reducción de la transparencia de un líquido causada por la presencia de materia no disuelta. El método de medida es según PEC.PQAR.609 basado en el Standard Methods for the Examination of Water and *Wastewater*, 22<sup>nd</sup> ed., 2012, 2130-B. Los turbidímetros fotoeléctricos usan una lámpara para iluminar la muestra, detectores fotoeléctricos para medir la luz dispersada por las partículas que enturbian la muestra, y dispositivos de lectura que indican la intensidad de la turbidez que está siendo medida. Este tipo de turbidímetros se calibran contra estándares de turbidez de formazina.

Las partículas que causan turbidez en la celda de muestras de un turbidímetro no son uniformes y cambian su posición constantemente, presentando una vista diferente al fotodetector del turbidímetro. Es por este motivo que no deben esperarse medidas completamente estables. El turbidímetro utilizado es el Turbidímetro marca Orbeco – Hellige, Direct Reading Turbidimeter.

Se corren las muestras por duplicado y estándar certificado Inorganic Ventures QCP-TURB.

#### **4.3.3- Carbono Orgánico Total (TOC).**

El carbono orgánico en agua es oxidado a dióxido de carbono por combustión. El dióxido de carbono generado por oxidación es determinado directamente. La determinación final de CO<sub>2</sub> es realizada por espectrometría infrarroja. Además del carbono orgánico, la muestra de agua puede contener dióxido de carbono o iones de ácido carbónico (TIC). Previo a la determinación de TOC, es esencial que ese carbono inorgánico sea removido por purga de la muestra acidificada con oxígeno de alta pureza (POC), obteniendo el carbono orgánico no purgable (NPOC).

El equipo utilizado es de la marca Lachat Instruments modelo IL 550 TOC-TN. Al seleccionar el método adecuado, este equipo permite que la muestra se acidifique y se le pase una corriente de oxígeno para la determinación del NPOC de manera automática por el autosampler. La acidificación se realiza con ácido fosfórico y se controla que se llegue a un pH<2. Para realizar las curvas de calibración del equipo se utilizan soluciones estándar preparadas a partir de biftalato de sodio. Al inicio de cada *batch* de corrida se agrega un blanco de agua ultrapura y muestras de control interno para chequear recuperación y validez de la curva. También se corren cada 10 muestras y a final de la corrida. Los estándares utilizados para el control de calidad son estándares certificados de la marca Inorganic Ventures QCP-DMD Lote F201074.

#### **4.3.4- Clorofila a**

El contenido de clorofila en aguas se mide según la técnica utilizada es la ISO 10260 con la variante de extracción B. Se prepara un equipo de filtración con papel de filtro de membrana de vidrio tipo MN GF3 de 47 mm de diámetro y bomba de vacío. Se prepara un tubo Falcon de 50 mL recubierto de papel de aluminio. Se debe realizar el análisis de clorofila llevando al límite las luces del ambiente para que se pueda proceder de forma segura y no exponer a la clorofila a la degradación causada por la luz. Se agita la muestra de agua por inversión de la botella o bidón varias veces y se

realiza una toma en probeta de 500 mL. Se enciende el vacío y se procede a la filtración de la toma de agua. Si la toma de 500 mL se filtra con facilidad se puede realizar una toma mayor para mejorar la sensibilidad del método. Como límite se debe realizar la toma más grande que se pueda sin que se tape el filtro y sin que la duración de la filtración supere los 3 minutos. El límite de tiempo es para evitar la exposición de la clorofila al aire que, así como la luz, la degrada. Se enjuagan las paredes del equipo de filtración con pequeñas porciones de agua ultrapura de modo de asegurarse de que toda la muestra haya pasado por el filtro. Se desmonta el equipo de filtración y se pasa el filtro con ayuda de una pinza de acero inoxidable de punta chata hacia el tubo Falcon vacío y protegido de la luz. Se transfieren 25 mL de etanol 90% con pipeta aforada al tubo conteniendo el filtro. El tubo Falcon se coloca en baño de agua a 75°C durante 5 min moviéndolo lateralmente un par de veces en el proceso. El extracto obtenido se lleva a temperatura ambiente y luego es medido espectrofotométricamente (previa filtración por filtro de membrana de 0,45 µm) a 665 y 750nm en celda de 5cm. Se acidifica el extracto con HCl 3M y se vuelve a medir pasados 5 min. La concentración de clorofila  $\rho_c$  en el extracto expresada en µg/L se calcula de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\rho_c = (A - A_a) \times 29,6 \times \frac{V_e}{V_s \times d}$$

**A**  $A = Abs_{665} - Abs_{750}$  Absorbancia del extracto medido antes de acidificar.

**A<sub>a</sub>**  $A = Abs_{665} - Abs_{750}$  Absorbancia del extracto medido luego de acidificar.

**V<sub>e</sub>** Volumen en mililitros del extracto.

**V<sub>s</sub>** Volumen en litros de muestra filtrada.

**d** Camino óptico de la celda en centímetros.

#### 4.3.5- Conductividad / Salinidad.

La conductividad eléctrica es la capacidad de la materia para permitir el flujo de la corriente eléctrica a través de sus partículas. Dicha capacidad depende directamente de la estructura atómica y molecular del material, así como de otros factores físicos como la temperatura a la que se encuentre o el estado en el que esté (líquido, sólido, gaseoso). En el caso de la medida en agua, la corriente conducida depende de la concentración y la naturaleza de los iones disueltos (su valencia, su movilidad) y de la temperatura y viscosidad de la solución.

La conductividad eléctrica se midió con un conductímetro marca HANNA instruments modelo HI-2030 edge® - Hybrid multiparameter EC Meter (Figura 13). La calibración del conductímetro se realiza con estándares certificados de 80,0 mS/cm, 12,88 mS/cm, 1413  $\mu$ S/cm, 84  $\mu$ S/cm y 23  $\mu$ S/cm según el rango de medida que tengan las muestras.

Para la medida es importante verificar que el elemento sensor quede completamente sumergido y que no haya burbujas adheridas al sensor. El resultado se informa a 25°C. Se corre como muestra de control interno un agua potable, de la cual se dispone de varias unidades del mismo lote y se lleva un gráfico de control para evaluar que el comportamiento del equipo sea el mismo que al momento de la validación.



Figura 13. Conductímetro Hanna EDGE; medida de la solución de KCl.

Para el cálculo de la salinidad para cada una de las muestras a partir de los datos de conductividad se utilizó el método APHA (Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 22<sup>nd</sup> ed., 2012) 2520 B “Electrical conductivity Method”. Este método usa la “escala práctica de salinidad”. Esta escala fue desarrollada en relación con una solución de KCl conteniendo una masa de 32,4356 g en 1 kg de solución lo que equivale a una salinidad de 35 partes por mil. Se calcula la relación de conductividades  $R_t$  como el cociente entre la conductividad de la muestra y la conductividad de la solución de KCl.

A partir de la relación de conductividades y a la temperatura de medida, se realizan los siguientes cálculos para poder obtener la salinidad:

$$R_t = \frac{C(\text{muestra a temperatura } t)}{C(\text{solución de KCl a } t)}$$

La salinidad se calcula según:

$$S = a_0 + a_1R_t^{1/2} + a_2R_t + a_3R_t^{3/2} + a_4R_t^2 + a_5R_t^{5/2} + \Delta S$$

Donde  $\Delta S$  se calcula como:

$$\Delta S = \left[ \frac{t - 15}{1 + 0.0162 \cdot (t - 15)} \right] * (b_0 + b_1R_t^{1/2} + b_2R_t + b_3R_t^{3/2} + b_4R_t^2 + b_5R_t^{5/2})$$

$a_0 = 0.0080$	$b_0 = 0.0005$
$a_1 = -0.1692$	$b_1 = -0.0056$
$a_2 = 25.3851$	$b_2 = -0.0066$
$a_3 = 14.0941$	$b_3 = -0.0375$
$a_4 = -7.0261$	$b_4 = 0.0636$
$a_5 = 2.7081$	$b_5 = -0.0144$

#### 4.3.6- Oxígeno disuelto.

El oxígeno disuelto (OD) en agua es importante como parámetro de calidad de agua por su carácter de esencial en los procesos de respiración aeróbica de los organismos y por mantener condiciones de oxidación en la columna de agua y en la interfase sedimento-agua (Boyd, 2015). Existen varios métodos de medida del oxígeno disuelto en agua. En este caso se utilizó el equipo marca YSI modelo 5100 que utiliza el método electroquímico. La determinación de oxígeno disuelto en agua en este equipo se da por medio de una celda electroquímica aislada de la muestra por una membrana gas permeable. Uno de los electrodos es de oro, donde el oxígeno es reducido en su superficie a través de un potencial electroquímico creado por un segundo electrodo. La corriente resultante de la reducción de oxígeno es directamente proporcional a la tasa de transporte de oxígeno a través de la membrana. La membrana plástica permeable al oxígeno recubre el elemento sensible de los electrodos y actúa a la vez como una barrera de difusión contra muchas impurezas que interfieren en los otros

métodos para la determinación del OD. Bajo condiciones regulares, la “corriente de difusión” es lineal y directamente proporcional a la concentración del OD.

El equipo YSI 5100 (Figura 14) también cuenta con compensación por presión atmosférica con un barómetro interno y por salinidad. Antes de comenzar los análisis se chequea el dato de la presión atmosférica en la página de INUMET en la estación meteorológica automática (EMA) del aeropuerto de Melilla (el más cercano al laboratorio) y se ajusta en el equipo si es necesario.



Figura 14. Medidor de oxígeno disuelto YSI 5100.

La sonda cuenta con un elemento agitador que permite homogeneizar la muestra durante la medida. La calibración del equipo se realiza en aire saturado de oxígeno tomándolo como el 100% de saturación. Para ello se satura de oxígeno un litro de agua destilada por medio de una bomba aireadora tipo de pecera (libre de aceite) durante dos horas. Se coloca en un recipiente de vidrio del tipo Winkler un volumen de esa agua correspondiente a una pulgada de altura. Se coloca la sonda y se enciende la agitación. Cuando la medida es estable (indicada por el equipo) se procede a la calibración al 100%. Todas las medidas se realizan en una sala de temperatura controlada a  $20 \pm 1$  °C y las muestras también se miden en ese rango de temperaturas. El resultado de la calibración debe ser el  $100 \pm 0.3$  % de saturación y una concentración de  $9.09 \pm 0,05$  mg/L a 20 °C. Si la temperatura es ligeramente diferente, el valor de 9.09 cambia y hay que referirse a las tablas de concentración contra temperatura en el manual del equipo para definir el valor esperado al calibrar.

Las muestras por medir se colocan en recipientes de vidrio Winkler, se rotulan y se llevan a baño de agua en la sala de  $20 \pm 1$  °C. Antes de realizar las medidas de las muestras, se calibra el equipo y luego se ingresa el valor de salinidad determinado en

el punto 4.3.5. Se coloca la sonda sumergida en la muestra y se enciende la agitación y se espera a una temperatura estable que el equipo la marca con un asterisco

#### **4.3.7- Nitrógeno total (NT).**

El nitrógeno total se mide según el método interno LATU PEC.PQAR.606 basado en la norma ISO 11905-2:1997. Este protocolo especifica un método para la determinación del nitrógeno total presente en el agua en forma de amonio, amoníaco, nitrito, nitrato y compuestos orgánicos capaces de convertirse en dióxido de nitrógeno bajo las condiciones oxidativas descritas. El nitrógeno gas disuelto no es determinado por este método.

Este método es aplicable para el análisis de aguas de baja contaminación (río, superficiales) y aguas residuales. El nitrógeno puede ser determinado en un rango de hasta 25 mg/L. Concentraciones superiores pueden ser determinadas mediante dilución de la muestra. El equipo utilizado es el mismo utilizado para la medida de carbono orgánico total (4.3.3) solo que configurado con el módulo de TN. El equipo realiza la oxidación del nitrógeno de la muestra a óxido nítrico, por combustión con oxígeno a 800°C. Luego el óxido nítrico reacciona con ozono para generar dióxido de nitrógeno electrónicamente excitado. La cuantificación del nitrógeno se hace utilizando un detector de quimioluminiscencia.

Al inicio de cada *batch* de corrida se agrega un blanco de agua ultrapura y muestras de control interno para chequear recuperación y validez de la curva. También se corren cada 10 muestras y a final de la corrida. El estándar utilizado para el control de calidad es el RTC Complex Nutrient Lote 018783.

#### **4.3.8- Nitrato, nitrito y fósforo soluble**

Los aniones nitrito, nitrato y fosfato se analizan por medio del método de cromatografía de iones, luego de filtrada la muestra por filtro de membrana de 0,45 µm. Se miden los iones en un cromatógrafo de iones marca Thermo (Dionex) modelo ICS5000+. El equipo cuenta con muestreador automático (AS50) y el método de detección es a través de un detector de conductividad. Previo al detector el equipo cuenta con un supresor de conductividad para minimizar el aporte de iones por parte del eluyente que es hidróxido de potasio generado electrolíticamente a partir de agua ultrapura y un generador de eluyentes. La separación de los iones se da en una columna aniónica AS19 de 2mm con su correspondiente precolumna AG19 de 2mm.

Se construyen curvas de calibración a partir de estándar certificado multicomponente Inorganic Ventures IC-FAS que cuenta con valores certificados con acreditación ISO 34 e ISO 17025 para los siguientes iones: Fluoruro, cloruro, nitrito, bromuro, nitrato, sulfato y fosfato. Como control de calidad de la curva se analizan en cada secuencia, estándares de adecuación del sistema (SST) para asegurar que las condiciones de medida del equipo sean las mismas que en la validación del método. Este estándar SST se corre además cada 10 muestras. Adicionalmente se corre un material certificado multianiones similar al de la curva, pero de diferente lote y a diferente nivel de concentración que el SST. El software Chromeleon 7.2.6 integra las áreas de los picos y las compara con las curvas para cada anión y entrega los resultados de cada uno.

Las muestras se filtran antes de colocarlas en los viales de 2 mL usualmente por filtros para jeringa de membrana de 0,45 µm. En este caso por ser muestras estuarinas con elevadas cantidades de cloruro, que saturarían la corrida por la elevada conductividad, se realiza un pretratamiento con cartuchos Thermo OnGuard Ag/H<sup>+</sup>. Estos filtros remueven los halogenuros por precipitación con plata y tienen además una parte inferior de resina de intercambio catiónico por protones que retiene metales y excedente de plata no precipitada que se haya podido desprender del cartucho.

#### **4.3.9- Fósforo total**

Todo el material utilizado en el ensayo fue previamente tratado con ácido clorhídrico al 10% en caliente para la remoción de restos de detergente del lavado. Posteriormente se enjuaga tres veces con agua ultrapura y se seca en estufa a 60°C.

Las aguas se analizan por analizador automático de flujo continuo (FIA) marca LACHAT, modelo Quikchem 8500 series 2, según el método QuikChem® Method 31-115-01-3-D. El método de medida incluye un segundo paso de digestión en línea a 120°C con persulfato y luz UV. El desarrollo de color se basa en la reacción con molibdato de sodio en medio ácido en presencia de tartrato de potasio para generar el ácido fosfomolibdico el cual es luego reducido por el ácido ascórbico generando una coloración azul que se mide fotométricamente a 880 nm. La curva de calibración se realiza con estándar de fosfato ácido de potasio y se realizan chequeos de la recuperación con material certificado Inorganic Ventures QCP-NUT-2 y con interlaboratorios de LGC (Aquacheck). Los chequeos con LGC Aquacheck se usan

como SST corriéndolos al iniciar la secuencia de análisis, cada 10 muestras y al finalizar la corrida. El Inorganic Ventures se corre luego del primer SST.

#### 4.4- Análisis de sedimentos.

##### 4.4.1- Análisis fisicoquímicos de sedimentos.

Los resultados de los análisis de sedimento se expresan en base seca por lo que previo a los análisis, una porción de la muestra fue secada al aire previa homogeneización. Para los análisis de sulfuro, fenoles y clorofila las muestras no se secaron por temas de estabilidad, corrigiéndose los resultados luego por el contenido de humedad de los sedimentos. En la Tabla 2 se muestran los ensayos realizados para cada uno de los sitios.

Tabla 2. Lista de ensayos fisicoquímicos en sedimentos con sus métodos de análisis.

<b>Tabla de ensayos fisicoquímicos en sedimentos</b>		
<b>Punto</b>	<b>Análisis</b>	<b>Método de ensayo</b>
4.4.1.1	<b>Nitrógeno Kjeldahl</b>	QuikChem® Method 10-107-06-2-p. Analizador FIA sobre digesto.
4.4.1.2	<b>Nitrito.</b>	PEC.PQAR.113 basado en ISO 10304-1:2007 sobre extracto acuoso. (Cromatografía de Iones).
4.4.1.2	<b>Nitrato</b>	PEC.PQAR.113 basado en ISO 10304-1:2007 sobre extracto acuoso. (Cromatografía de Iones).
4.4.1.2	<b>Sulfato</b>	PEC.PQAR.113 basado en ISO 10304-1:2007 sobre extracto acuoso. (Cromatografía de Iones).
4.4.1.3	<b>Sulfuro</b>	EPA 9030B. Sulfuros solubles en ácido.
4.4.1.4	<b>Clorofila</b>	ISO 10260:1992
4.4.1.5	<b>Fósforo Total</b>	PEC.PQAR.703. Analizador FIA sobre digesto, por QuikChem® Method 31-115-01-3-D.
4.4.1.6	<b>Fenoles</b>	PEC.PQAR.603. Analizador FIA sobre destilado, por QuikChem® Method 10-210-00-1-X.
4.4.1.7	<b>Materia Orgánica</b>	PEC.PQAR.702 basado en Soil Survey Staff, 2014 método 5A
4.4.1.8	<b>Distribución de tamaño de partículas</b>	Método UOP 856-07 "Particle Size Distribution of powders by laser light scattering".

##### 4.4.1.1- Nitrógeno Kjeldahl.

El método de nitrógeno Kjeldahl determina la suma de nitrógeno orgánico, amoníaco (NH<sub>3</sub>) y amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) en la muestra. El método se basa en la digestión de la muestra con una solución de ácido sulfúrico concentrado, sulfato de cobre y sulfato de potasio y una posterior medida del amonio por analizador automático de

flujo continuo (FIA). El equipo FIA utilizado es marca LACHAT modelo Quikchem 8500 series 2 (Figura 15).



Figura 15. Equipo LACHAT Quikchem 8500 Series 2 de cuatro canales

El análisis se realiza a través de un desarrollo de color por reacción de la muestra digerida con salicilato y nitroprusiato de sodio en presencia de hipoclorito de sodio y medida fotométrica del complejo formado a 660nm. La digestión se realiza en un bloque digestor de la marca Velp modelo DK 4/26 a través de una toma exacta de sedimento previamente secado al aire de aproximadamente 0,2g. Se coloca en un tubo de vidrio de 100 mL y se agregan 8 mL de solución digestora. El programa de calentamiento del digestor incluye varias rampas de temperatura para evitar proyecciones y finaliza con la etapa de mineralización a 390°C de media hora de duración. El digesto se lleva a 25 mL en matraz aforado y luego es medido en el FIA de acuerdo al método QuikChem® Method 10-107-06-02 equivalente al método EPA 351.2. La curva de calibración se prepara a partir de solución estándar de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  preparada a partir de sólido de pureza >99%. La digestión incluye dos blancos de digestión y dos estándares certificados para evaluar contaminación del sistema de digestión en el caso de los blancos y para evaluar la recuperación y la efectividad de la digestión en el caso de los estándares. El estándar certificado utilizado es Inorganic Ventures QCP-NUT-2 R2-NUT688021.

#### **4.4.1.2- Nitrito, nitrato y sulfato.**

Los aniones nitrito, nitrato y sulfato se analizaron sobre un extracto acuoso del sedimento por medio del método de cromatografía de iones. El extracto del sedimento se prepara utilizando agua ultrapura según método de USDA Soil Survey Laboratory

Methods Manual 4F2c1b1a1-7 (Soil Survey Staff, 2014). El extracto obtenido es luego centrifugado a 3000 r.p.m. durante 15 min y filtrado por filtro de membrana de nitrocelulosa de 0,45  $\mu\text{m}$  a un vial de 1,5 mL de capacidad. Se miden los iones en un cromatógrafo de iones marca Thermo (Dionex) modelo ICS5000+ (ver Figura 16). El equipo cuenta con muestreador automático (AS50) y el método de detección es a través de un detector de conductividad. Previo al detector el equipo cuenta con un supresor de conductividad para minimizar el aporte de iones por parte del eluyente que es hidróxido de potasio generado electrolíticamente a partir de agua ultrapura y un generador de eluyentes. La separación de los iones se da en una columna aniónica AS19 de 2mm con su correspondiente precolumna AG19 de 2mm.



Figura 16. Cromatógrafo de Iones Thermo (Dionex) ICS 5000+.

Se construyen curvas de calibración a partir de estándar certificado multicomponente Inorganic Ventures IV IC-FAS-1A P2MEB680049 que cuenta con valores certificados con acreditación ISO 34 e ISO 17025 para los siguientes iones: Fluoruro, cloruro, nitrito, bromuro, nitrato, sulfato y fosfato. Como control de calidad de la curva se analizan en cada secuencia, estándares de adecuación del sistema (SST) para asegurar que las condiciones de medida del equipo sean las mismas que en la validación del método. Este estándar SST se corre además cada 10 muestras. Adicionalmente se corre un material certificado multianiones similar al de la curva, pero de diferente lote y a diferente nivel de concentración que el SST. El software Chromeleon 7.2.6 integra las áreas de los picos y las compara con las curvas para cada anión y entrega los resultados de cada uno.

#### 4.4.1.3- Sulfuro.

El sulfuro analizado en sedimentos corresponde a los sulfuros volátiles en ácido (AVS) analizados según el método EPA 9030B. Este método es adecuado para sólidos que contengan entre 0,2 y 50 mgS<sup>2</sup>/Kg. Los sulfuros considerados insolubles en ácido se recuperan solo parcialmente con este método. El sulfuro de cobre (CuS), uno de los compuestos insolubles más estables, se recupera entre 20 y 40% mientras que el sulfuro de estaño (SnS<sub>2</sub>) que es ligeramente más soluble se recupera entre un 40 y un 60%.

La determinación de sulfuros se realiza por destilación a 70°C en un balón de vidrio de tres bocas conectado a una corriente de nitrógeno (evita que se oxiden los sulfuros liberados del sedimento), una entrada a un dispensador de ácido sulfúrico y por último a dos lavadores de gases (scrubber) conteniendo soluciones de acetato de cinc y de formaldehído para capturar el sulfuro liberado (Figura 17). El ácido agregado se mezcla con el sedimento y se mezcla por agitación magnética. Se calienta en baño de agua a 70°C y el sulfuro destilado es arrastrado por la corriente de nitrógeno a los scrubber. Luego de terminada la destilación se adiciona una cantidad exacta de solución valorada de iodo y se retro valora cada uno de los scrubber con solución valorada de tiosulfato de sodio. De este modo se determinan los mg de sulfuro en cada scrubber los cuales se suman y se calcula el contenido en los sedimentos de acuerdo con la toma de sedimento realizada.

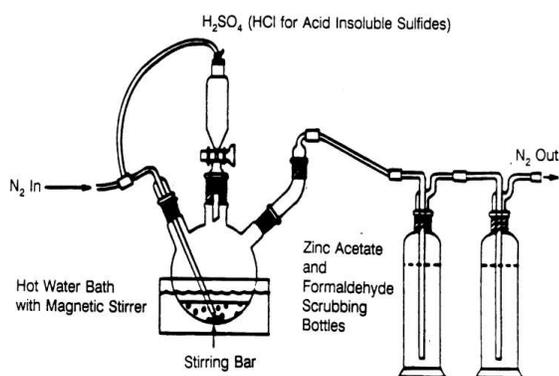


Figura 17. Esquema del equipo utilizado para la destilación de sulfuros solubles en ácido

#### **4.4.1.4- Clorofila a.**

El contenido de clorofila en sedimentos se mide en la porción de los primeros 10 mm de la superficie. La técnica utilizada es la ISO 10260 con la variante de extracción B. Se coloca aproximadamente 1 gramo de sedimento húmedo pesado de forma exacta en balanza analítica en un tubo Falcon de 50 mL. Se cubre con papel de aluminio para proteger la clorofila de la luz para evitar degradación durante la extracción. Se prepara un equipo de filtración con papel de filtro de membrana de vidrio tipo MN GF3 de 47 mm de diámetro y bomba de vacío. Se agita la muestra de sedimento y agua durante un minuto y se procede a la filtración de la suspensión. Se enjuagan las paredes del equipo de filtración con pequeñas porciones de agua ultrapura de modo que todo el sedimento quede sobre el filtro. Se desmonta el equipo de filtración y se pasa el filtro con ayuda de una pinza de acero inoxidable de punta chata hacia el tubo Falcon vacío y protegido de la luz. Se transfieren 25 mL de etanol 90% con pipeta aforada al tubo conteniendo el filtro. El tubo Falcon se coloca en baño de agua a 75°C durante 5 min moviéndolo lateralmente un par de veces en el proceso. El extracto obtenido se lleva a temperatura ambiente y luego es medido espectrofotométricamente (previa filtración por filtro de membrana de 0,45 µm) a 665 y 750nm. Se acidifica el extracto con HCl 3M y se vuelve a medir pasados los 5 min. La concentración de clorofila  $\rho_c$  en el extracto expresada en µg/L se calcula de acuerdo con la ecuación desarrollada en el punto 4.3.4. Posteriormente se realizan los cálculos para expresarlo en mg de clorofila por kg de sedimento en base seca utilizando los valores de humedad del sedimento.

#### **4.4.1.5- Fósforo Total.**

El fósforo total en sedimentos se mide según el protocolo del LATU PEC.PQAR.703. Todo el material utilizado en el ensayo fue previamente tratado con ácido clorhídrico al 10% en caliente para la remoción de restos de detergente del lavado. Posteriormente se enjuaga tres veces con agua ultrapura y se seca en estufa a 60°C. La digestión se basa en la AOAC 10<sup>th</sup> Edition Método de fósforo total 22, 2017-d. La muestra de sedimento secada al aire se muele en mortero de cerámica. Se pesan aproximadamente 1,0 g de muestra en un Erlenmeyer de 250 mL en balanza analítica. Para realizar la digestión se trabajó en campana de extracción de ácidos con elementos de protección (guantes y lentes de seguridad). Se enciende la plancha calefactora a 250°C. Se le adicionan 12 ml de ácido sulfúrico y se coloca el erlenmeyer

en la plancha a 250°C. Se adiciona una punta de espátula de nitrato de potasio (calidad ACS) y la digestión comienza liberando gases amarronados.

Cuando deja de liberar gases se repite el agregado de más reactivo sólido. Se sigue repitiendo el agregado de reactivo hasta que no se observe la generación de vapor luego de la adición. El contenido del Erlenmeyer debe ser transparente o ligeramente amarillento. Se agregan 100 mL de agua ultrapura lentamente y se lleva a ebullición por 15 min. Se filtra en caliente por filtro Whatman N°41 a un matraz aforado de 250 mL. Una vez a temperatura ambiente se lleva a pH 4 con hidróxido de sodio y se lleva a volumen con agua ultrapura.

Los sedimentos digeridos se analizan por analizador automático de flujo continuo (FIA) marca LACHAT, modelo Quikchem 8500 series 2, según el método QuikChem® Method 31-115-01-3-D. El método de medida incluye un segundo paso de digestión en línea a 120°C con persulfato y luz UV. El desarrollo de color se basa en la reacción con molibdato de sodio en medio ácido en presencia de tartrato de potasio para generar el ácido fosfomolibdico el cual es luego reducido por el ácido ascórbico generando una coloración azul que se mide fotométricamente a 880 nm. La curva de calibración se realiza con estándar de fosfato ácido de potasio y se realizan chequeos de la recuperación con material certificado Inorganic Ventures QCP-NUT-2 R2-NUT688021 y con interlaboratorios de LGC (Aquacheck).

#### **4.4.1.6- Fenoles.**

El análisis de sustancias fenólicas en sedimento se realiza según el protocolo interno del LATU PEC.PQAR.603 basado en EPA 420.4. El método se basa en una destilación de los compuestos fenólicos a 130°C y su posterior determinación por analizador automático de flujo continuo (FIA) luego de reacción con ferricianuro de potasio y 4-aminoantipirina.

La destilación se realiza en un destilador marca LACHAT que usa un sistema de tubos de plástico ensamblados que permiten la destilación y difusión a través de una membrana inserta en el tubo. Para la destilación se toman 0,2 g de sedimento y se coloca en tubo de plástico de destilación agregando una gota de ácido fosfórico concentrado y anaranjado de metilo y se agregan entre 4 y 5 mL de agua ultrapura verificando que el tubo no quede muy lleno. Luego se ensambla con la parte superior del equipo de destilación que cuenta con una membrana inserta y en su extremo superior otra membrana y tapa. Se colocan en el destilador a 130°C durante 90 min.

El destilado difunde por la membrana y queda retenido en el tubo superior entre las dos membranas. Si se verifica coloración en el destilado repetir la destilación. El ensamble de destilación se rompe por la mitad para acceder al destilado el cual se lleva a un volumen final de 6 mL con agua ultrapura. Se pasan las muestras a tubos de vidrio para analizarlos por FIA.

El método usado es el QuikChem® Method 10-210-00-1-X equivalente al método EPA 420.1. Se basa en un desarrollo de color con reactivo de ferricianuro de potasio a pH alcalino (pH 10,3) y reactivo de 4-aminoantipirina, formando un color rojo que se mide fotométricamente a 500 nm. Para la curva de calibración y los controles de calidad se usan soluciones valoradas preparadas a partir de dos lotes diferentes de fenol cristalizado. También se corre material certificado Inorganic Ventures IV N2-PHEN673658

#### **4.4.1.7- Materia orgánica**

El análisis de la materia orgánica en sedimentos se realiza según el método interno del LATU PEC.PQAR.702 basado en USDA Soil Survey Field and Laboratory Methods Manual, Report N°51, Version 2, método 5A. La materia orgánica se determina como la pérdida por ignición a 400°C (Soil Survey Staff, 2014).

Una porción del sedimento se seca al aire según el método Soil Survey laboratory Methods Manual, método 1B1b2. Una vez secos, se colocan cápsulas de cerámica en estufa a 105±4°C durante 30 min. Se colocan en desecador y una vez que lleguen a temperatura ambiente se rotulan y se pesan en balanza analítica. Se realiza una toma de sedimento seco al aire de 10 a 15g y se vuelve a pesar en balanza analítica. Se analiza cada una de las muestras por duplicado. Las cápsulas con las muestras se llevan luego a estufa a 105±4°C por 16 horas o toda la noche hasta llegar a peso constante. Las muestras se colocan en desecador y una vez que llegan a temperatura ambiente se pesan en balanza analítica. Las cápsulas con las muestras se llevan luego a mufla a 400±10° por 16 horas o toda la noche hasta llegar a peso constante. Las muestras se colocan en desecador y una vez que llegan a temperatura ambiente se pesan en balanza analítica. Se realizan los cálculos de la materia orgánica de acuerdo con las siguientes fórmulas:

Toma (g) = (masa crisol + toma) – masa crisol

Toma seca 105°C (g) = (masa de crisol + toma seca a 105) – masa crisol

Cenizas (g) = (masa crisol + cenizas) – masa crisol

Humedad (g/100g) = ((toma – toma seca a 105)/toma) x 100

Materia orgánica (g/100g) = 100-((cenizas/toma) x 100) – Humedad

#### 4.4.1.8- Distribución de tamaño de partículas

La medida de la distribución de tamaño de partículas se basa en la medida de la dispersión de la luz hacia adelante. Un haz de luz láser se proyecta a través de una corriente circulante de partículas y los patrones de dispersión resultantes son medidos por un fotodetector. La intensidad de la luz detectada en varios ángulos es proporcional al número y al tamaño de las partículas. La distribución del tamaño de partículas es luego presentada en histogramas y los datos en tablas de tamaños en micras y porcentaje( $\sigma$ ), asimetría gráfica (Ski) y Kurtosis (Kg). El método utilizado es el UOP 856-07 "Particle Size Distribution of powders by laser light scattering". El equipo utilizado es el Microtrac Modelo S3500 (Figura 18).



Figura 18. Equipo Microtrac Modelo S3500 para distribución de tamaño de partículas por láser.

Se trabajó con los sedimentos del primer centímetro de los corer liofilizados y tamizados por tamiz de 2mm. Se realiza un tratamiento previo con peróxido de hidrógeno para remoción de la materia orgánica y luego con ácido para remoción de carbonatos. Para ello, una fracción de aproximadamente 5 g de sedimento liofilizado se colocó en tubo Falcon pretratado con  $\text{HNO}_3$  1N. Se le adicionaron 15 mL de peróxido de hidrógeno 30% (calidad ACS) para oxidar la materia orgánica y se dejó reaccionar de un día para el otro con ocasionales mezclas manuales del sedimento

con el peróxido para que la reacción sea más completa. Luego se colocaron los tubos en un baño de agua a 85°C durante 4 horas para eliminar restos de peróxido. Una vez que se ve que no hay más burbujeo se le agregan 5 mL de ácido clorhídrico 3N y se lo deja reaccionar tres horas más para remover posibles carbonatos en las muestras. Se llevó a sequedad de un día para el otro, en estufa a 60° C.

Antes de iniciar el análisis de las muestras se corre agua ultrapura en el equipo para definir una corrección de background. Se colocan aproximadamente 1 g de muestra en un vaso de bohemia de 30 ml conteniendo 25 ml de agua ultrapura y una pastilla magnética para agitación. Se homogeneiza la muestra y se transfiere a la cámara de análisis iniciando el proceso de medida de forma automática.

Como material de referencia se utilizan dos estándares de esferas de vidrio de diferentes tamaños de la marca Microtrac. El Microtrac Reference Material Glass 1 Lot 042211-L4-B4-MS-S tiene como valor de referencia el rango entre 55 y 69 µm mientras que el Microtrac Reference Material Glass 2 Lot BW011812-1-R1-R-S tiene como valor de referencia el rango entre 624 y 670 µm.

#### **4.4.2- Análisis de Metales en sedimento**

La determinación de cadmio, cobre, cromo, mercurio, níquel, plomo y zinc fue realizada por dilución isotópica con detección por espectrometría de masas de sector magnético con plasma acoplado inductivamente (ICP-SFMS). La determinación de escandio fue realizada por adición estándar con estándar interno con detección por ICP-SFMS.

La preparación de las muestras fue realizada por digestión en sistema cerrado asistida por microondas utilizando un microondas analítico Multiwave PRO rotor 8NXF100 (Anton Paar, Graz-Austria) Figura 19). Para la digestión, a 0,05-0,8 g de muestra se le adicionó 5 ml de ácido nítrico doblemente destilado en un sistema de destilación a subebullición Milestone DuoPur (Milestone, Sorisole-Italia), 2 ml de peróxido de hidrógeno 30% Merck Suprapur (Merck, Darmstadt-Alemania) y 3 ml de agua purificada a través de un sistema Millipore DirectQ3-UV (Merck Millipore, San Pablo-Brasil). El programa de digestión constó de una rampa hasta 1500W por 15 minutos seguido de una meseta a 1500 W durante 45 minutos. La temperatura máxima alcanzada por los vasos fue de 220°C y la presión máxima 60 bar. La extracción es comparable a la realizada en la norma USEPA 3050B.

Para los sedimentos no se trata de una digestión total ya que no se utiliza ácido fluorhídrico (HF), es una digestión ácida muy fuerte que disuelve la mayor parte de los elementos que pueden ser ambientalmente disponibles. Elementos ligados a las estructuras de silicatos no son normalmente disueltos por este procedimiento y por lo general no son móviles en el ambiente (USEPA 3050B). Si se requiere una digestión total se puede usar el método USEPA 3052 pero en el presente trabajo la digestión realizada es para determinar los metales ambientalmente disponibles.



Figura 19. Digestor de microondas Anton Paar.

Para el control de calidad de las mediciones en sedimentos se utilizó el material de referencia certificado NIST 2702 Inorganics in Marine Sediment, National Standards and Technology (Gaithersburg, USA). Para evaluar recuperaciones en la matriz sedimentos, este estándar cuenta con valores certificados para cromo, níquel, cinc, cadmio, plomo, mercurio y escandio y valores de referencia para cobre.

Los isótopos enriquecidos para los análisis de ICP-SFMS fueron adquiridos de Oak Ridge National Laboratory (San Francisco, USA) y de Isoflex (USA).

Los calibrantes utilizados fueron materiales de referencia certificados de soluciones monoelementales adquiridos del National Standards and Technology (Gaithersburg, USA) y del Slovak Institute of Metrology (Bratislava, Eslovaquia).

Para la determinación por dilución isotópica (DI) los isótopos enriquecidos fueron adicionados a los digestos y a soluciones calibrantes. Los siguientes pares isótopos de referencia/isótopo enriquecido fueron utilizados para la cuantificación:  $^{114}\text{Cd}/^{111}\text{Cd}$ ,  $^{63}\text{Cu}/^{65}\text{Cu}$ ,  $^{52}\text{Cr}/^{53}\text{Cr}$ ,  $^{202}\text{Hg}/^{199}\text{Hg}$ ,  $^{60}\text{Ni}/^{61}\text{Ni}$ ,  $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ ,  $^{66}\text{Zn}/^{67}\text{Zn}$ . Una vez alcanzado

el equilibrio isotópico se realizaron las mediciones utilizando un ICP-SFMS marca Thermo Fisher Scientific Modelo Element2 operado en baja resolución para Cd, Hg y Pb y en resolución media para Cu, Cr, Ni y Zn de forma de resolver adecuadamente las interferencias espectrales (Figura 20).



Figura 20. Equipo ICP-SFMS marca Thermo Fisher Scientific Modelo Element2.

Para la determinación de Sc, a una fracción de digesto se le adicionó una cantidad conocida de calibrante de escandio. Como estándar interno se utilizó calcio presente en la muestra. Los isótopos monitoreados fueron  $^{45}\text{Sc}$  y  $^{43}\text{Ca}$ . La medición por ICP-SFMS fue realizada en resolución media.

#### **4.5- Análisis de Metales en *Heleobia australis***

El análisis de los metales en los tejidos blandos del gasterópodo *Heleobia australis* es complejo debido a su tamaño pequeño, lo cual dificulta su disección. Al ser necesarios 0,15 gramos de tejido blando como mínimo para la extracción y análisis de metales, se deben procesar un gran número de organismos y hacer un pool. Los organismos analizados oscilaban entre 5 y 10 mm por lo que se intentó realizar en primera instancia una disección sujetándolos con pinzas y bajo lupa binocular. Más

allá de lo complejo de la manipulación de a un organismo, la dureza de la concha que protege los tejidos blandos dificultaba mucho poder romperla de manera precisa si dañar el interior. Se sumaba el hecho que, para poder llegar a un mínimo de masa de tejido blando para poder realizar el análisis de los metales, había que procesar de esa manera más de 100 organismos por sitio. Se buscó entonces otra alternativa para poder procesar de manera más adecuada la muestra. Se optó por realizar una digestión débil con ácido tricloroacético (TCA) en los gasterópodos de entre 3 y 4 mm (Sokolowski A. et al, 2003). Los autores antes mencionados indicaban una descarbonatación y disolución de las conchas por exposición de los organismos sin liofilizar, a una solución de TCA al 0,1M durante seis horas siguiendo el proceso por lupa. Se intentó replicar el experimento con *Heleobia australis* en esas mismas condiciones y no se logró un resultado satisfactorio ya que no se evidenciaban signos de ataque de la integridad de las conchas. Se intentó una concentración 10 veces superior sin éxito.

Las pruebas preliminares de extracción fueron realizadas con muestras de Laguna de Rocha. Se liofilizaron un grupo de *Heleobia australis* de Laguna de Rocha por 24 horas en un liofilizador previamente enjuagados 5 veces con agua ultrapura para eliminar restos de sedimento. Se preparó un dispositivo para poder tamizar la muestra liofilizada para sacar tejido blando por vibración. El dispositivo está compuesto por un recipiente plástico de 500 mL, un equipo de filtración de plástico que se adapta al recipiente, una malla plástica de 325  $\mu\text{m}$  y una tapa de plástico. Se coloca el equipo de filtración con la malla de 325  $\mu\text{m}$  sujeta en él con una arandela plástica (que normalmente sirve para sujetar los filtros utilizados de 90mm) sobre el recipiente de plástico. Se coloca la muestra sobre la malla y se coloca la tapa. Se coloca el sistema de tamizado en un agitador de tamices de velocidad regulable marca Retsch, ajustándose con la tapa del tamizador y dos tuercas que logran una buena sujeción. Se encendió la agitación hasta la velocidad máxima donde no surgieran vibraciones con mucho ruido y se mantuvo la agitación por 20 minutos. Al desmontar el equipo se constató la recolección de material en el recipiente el cual fue pasado a un eppendorf previamente pesado para evaluar si la cantidad de muestra era suficiente. La cantidad era suficiente, pero al inspeccionar las muestras se vio que algunos organismos aún presentaban el opérculo claramente visible (ver Figura 21, derecha) y expuesto que podía estar impidiendo la remoción de mayor cantidad de tejido blando. Con un gancho de acero inoxidable se retira parcialmente el opérculo de los organismos en los que se vea claramente su presencia. Se rompe fácilmente por estar liofilizado el

tejido y se vuelve a ensamblar el equipo de tamizado y se vuelve a agitar otros 20 minutos obteniendo mayor cantidad de material. Queda así definida la técnica de extracción de los tejidos blandos, teniendo en cuenta el hecho de tener que tratar todo el material plástico antes de utilizarlo con ácido nítrico, incluido el eppendorf final donde se almacena la muestra para el posterior análisis de metales.



Figura 21. *Helicobius australis* congelada a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  (izquierda) y *Helicobius australis* después de liofilizar por 24 Hs (derecha)

El análisis de los metales en *Helicobius* para cada uno de los sitios de muestreo se realizó del mismo modo que el análisis de metales en sedimentos descrito en el punto 4.4.2. El tratamiento de extracción de la biota y los sedimentos es el mismo con la diferencia que al ser la biota mayoritariamente materia orgánica, la digestión del material es total. En el caso de los sedimentos, como tienen mucha sílice, queda un residuo en el fondo del vaso de digestión, quedando en solución todos los elementos biodisponibles.

Para los controles de calidad y medidas de recuperación en matrices biológicas, se utilizaron los materiales certificados de referencia NIST 1577c Bovine liver y DOLT5 Dogfish liver National Research Council Canada (Ottawa, Canadá).

El material certificado NIST 1577c proviene de tejidos de hígado de novillos liofilizados y cuenta con valores certificados para los metales: cromo, níquel, cobre, cinc, cadmio y plomo. El material certificado DOLT 5 proviene de hígado de pez liofilizado y cuenta con valores certificados para los metales: cobre, cinc, cadmio, plomo y mercurio y valores de referencia para cobre y níquel.

## 4.6- Análisis de datos.

### 4.6.1. Índices de contaminación metálica en sedimento.

Se determinó para cada metal y para cada sitio la concentración de metales en los sedimentos. Se realizó una prueba de *outliers* para las cinco réplicas para cada sitio y para cada metal con el software libre PAST v. 4.03 (Hammer et al., 2001). Se construyeron gráficas para cada metal y para cada sitio con el promedio de las cinco réplicas, tomando en cuenta de quitar los *outliers* al promediar. Se calculó para cada metal y para cada sitio, el factor de enriquecimiento (**FE**) para ponderar por el contenido de metales naturalmente presentes en el sedimento y poder clasificar de ese modo, si el origen de la contaminación es antrópico o bien si es de origen natural. El cálculo del FE se realizó de acuerdo con (Szefer et al., 1998). Este factor normaliza tomando en cuenta los valores de referencia de otro elemento en la muestra, y las concentraciones del metal a determinar y el de referencia en sedimentos de la fracción más profunda de un corer preferentemente de un sitio cercano. Se define como:

$$FE = (X_i / Mref_i) / (X_0 / Mref_0).$$

Donde:  $X_i$  es la concentración del metal en la muestra  $i$ ;  $X_0$  es la concentración de nivel de base del metal;  $Mref_i$  es la concentración del metal de referencia en la muestra  $i$  y  $Mref_0$  es el valor de base del metal de referencia.

Se utilizó Escandio (Sc) como elemento normalizador ya que es un constituyente importante de la fracción de grano fino de los sedimentos. Refleja adecuadamente la variabilidad asociada al tamaño de partícula en los sedimentos y no es agregado por fuentes antropogénicas (Loring & Rantala, 1992).

El nivel base de cada metal es conocido como *background*. La concentración de background se define como la concentración de un determinado contaminante en un área prístina o remota (inalterada por la actividad humana) basada en datos históricos o contemporáneos (Birch, 2017). El valor base del metal de referencia ( $Mref_0$ ) y de los metales (background) se pueden obtener a través de una medición de las concentraciones de metales en las fracciones más profundas de una muestra sacada por un testigo, o de existir literatura con valores obtenidos de esa manera y en el mismo sitio, también se puede usar el dato. De esta manera se pueden obtener mediante datación de las fracciones del testigo, las concentraciones de metales correspondientes a la fracción del testigo de la época preindustrial. Otra forma de

definir los niveles de background es seleccionar sitios prístinos cercanos o de similares características, con sedimentos de muy baja contaminación de metales (García-Alonso, 2017). Muchos trabajos utilizan como referencia para el background la concentración de los elementos en la corteza terrestre tomándolo de Riley & Chester, 1971. Esto puede diferir mucho de la realidad por no ser representativo de los sedimentos de la zona de muestreo. A partir de los valores del FE, se puede determinar el grado de polución metálica de los sedimentos (Del Águila *et al.*, 2005).

En el presente trabajo se tomó como *background* los valores de un testigo sacado en la Bahía de Montevideo BAT 1 (Bueno *et al.*, 2016). Se toman los valores promedio para cada metal de las fracciones correspondientes a los años anteriores a 1765. Se calculan los FE respecto a los valores de *background* tomados del testigo BAT 1. También se calcularán los factores de enriquecimiento relativo (FER) tomando como *background* los valores de cada metal correspondientes al sitio de muestreo con concentraciones de metal más bajas, a efectos de comparar posibles variaciones en los resultados dependiendo de la elección de los valores base de los metales (Chen *et al.*, 2022).

Con los resultados de los factores de enriquecimiento se calcula el Factor Global de Enriquecimiento (GEF) como la sumatoria de los FE de cada metal para cada sitio (Unda-Calvo *et al.*, 2019).

$$GEF = \sum_{n=1}^{n=6} EF$$

Los valores de FE obtenidos se compararon con la siguiente clasificación (Tabla 3) (Sutherland, 2000).

Tabla 3. Clasificación de factores de enriquecimiento de metales

Valor de FE	Clasificación
FE < 2	Enriquecimiento mínimo. Sugiere una contaminación mínima o nula.
2 < FE < 5	Enriquecimiento moderado.
5 < FE < 20	Enriquecimiento significativo.
20 < FE < 40	Enriquecimiento muy elevado, indica alto nivel de contaminación.
FE > 40	Enriquecimiento extremadamente elevado, indica contaminación extrema.

Para lograr comprender el comportamiento de elementos potencialmente tóxicos en un área de estudio determinada, se puede utilizar el índice de carga contaminante **PLI** (Pollution Load Index) (Tomlinson *et al.*, 1980). El PLI representa el número de veces en el que, las concentraciones en el sedimento del elemento potencialmente tóxico, excederá la concentración de esa especie en el sedimento de referencia o de background (Muniz *et al.*, 2019). Para la interpretación de los resultados de PLI se compara con una escala que va desde el cero al 10 indicando un cero que no hay polución y el 10 es indicativo de polución extrema (Praveena *et al.*, 2007). El cálculo se basa en los factores de concentración CF de cada elemento respecto del background:

$$PLI = \sqrt[n]{CF_1 \times CF_2 \times CF_3 \times \dots \times CF_n}$$

$$CF_{\text{elemento}} = C_{\text{elemento}} / C_{\text{background}}$$

CF es el factor de concentración para cada metal que se calcula como el cociente entre la concentración de ese metal en el sedimento y la concentración de background.

El grado de contaminación modificado (**mCd**) propuesto por Abraham & Parker en 2008, se define como la suma de todos los factores de contaminación dividido por el número de contaminantes evaluados. La concentración media de cada metal debe ser obtenida de al menos 3 réplicas de sedimentos superficiales de cada sitio. Las concentraciones de background son determinadas de acuerdo con lo indicado en el cálculo de los factores de enriquecimiento en el punto 4.6.1. Los resultados obtenidos se comparan con la clasificación mencionada en la Tabla 4 (Abraham & Parker, 2008).

Tabla 4. Grado de contaminación según el indicador *mCd*.

$$mC_d = \frac{\sum_{i=1}^{i=n} C_f^i}{n}$$

<i>mCd</i>	Clasificación (Abraham & Parker, 2008)
<b><i>mCd</i> &lt; 1,5</b>	Nulo o muy bajo grado de contaminación
<b>1,5 ≤ <i>mCd</i> &lt; 2</b>	Bajo grado de contaminación
<b>2 ≤ <i>mCd</i> &lt; 4</b>	Grado medio de contaminación
<b>4 ≤ <i>mCd</i> &lt; 8</b>	Alto grado de contaminación
<b>8 ≤ <i>mCd</i> &lt; 16</b>	Muy alto grado de contaminación
<b>16 ≤ <i>mCd</i> &lt; 32</b>	Grado extremadamente alto de contaminación
<b><i>mCd</i> &gt; 32</b>	Grado Ultra alto de contaminación

Una herramienta para evaluar el potencial tóxico de contaminantes en sedimentos es comparar sus concentraciones respecto a niveles de contaminantes que tienen una alta probabilidad de causar efectos adversos en biota acuática. Estos valores son generalmente referidos como guías de calidad de sedimentos (del inglés **SQG<sub>s</sub>**) (MacDonald et al., 2000; Buchman, 2008). El valor **TEL** (Threshold Effect Limit) es la concentración a partir de la cual una respuesta tóxica comienza a aparecer. Se calcula ponderando la concentración que causa un 15% de efectos tóxicos en organismos bentónicos con la concentración en la cual el 50% de los organismos no muestran efectos tóxicos. El valor **PEL** (Probable Effect Limit) es la concentración a partir de la cual los sedimentos muestran un efecto tóxico. El PEL se calcula ponderando la concentración que causa el 50% de efectos tóxicos en los organismos con la concentración que no causa efectos tóxicos en el 85% de los organismos (MacDonald et al., 2000).

Las guías SQG<sub>s</sub> incluyen tabla de valores con los PEL y TEL calculados por lo que se realizó la comparación directa con los resultados de metales para cada sitio. También se compara con los parámetros Efectos de rango bajo (ERL) y efectos de rango medio (ERM) que son medidas de toxicidad en sedimentos. Representan al percentil 10 y el percentil 50 de un grupo de sedimentos asociados a efectos adversos sobre organismos biológicos, sustentado en un extenso set de datos de ensayos de toxicidad (Long et al., 1995; 1998).

Para estimar las posibles consecuencias ambientales de los metales analizados los resultados fueron comparados con las guías de calidad de sedimento de la Oficina Nacional de Administración Oceánica y Atmosférica de los Estados Unidos (NOAA) (Buchman, 2008). En las guías figuran valores para sedimentos de ambientes de agua

dulce y valores para sedimentos marinos para cada metal. Se realizará la comparación contra las dos tablas de valores ya que los sedimentos testeados son estuarinos.

#### 4.6.2. Índices de bioacumulación de metales en *Heleobia australis*.

A efectos de evaluar la capacidad potencial de un organismo acuático para acumular metales pesados desde el sedimento, se utilizó el factor de acumulación biota-sedimento (**BSAF**). Es uno de los índices más importantes utilizados para relacionar la concentración de metales en el organismo respecto a la concentración del sedimento

Con los datos de metales en sedimentos, y los datos de contenido de metales en los tejidos blandos de *Heleobia australis* se calcularon los factores de bioacumulación biota-sedimento (BSAF) de acuerdo con la ecuación:

$$\text{BSAF} = [M]_{\text{biota}} / [M]_{\text{sedimento}}$$

Siendo  $[M]_{\text{biota}}$  y  $[M]_{\text{sedimento}}$  las concentraciones de cada metal en biota y en el sedimento respectivamente.

Con los resultados de BSAF para cada metal y en cada punto se evaluó la capacidad bioacumuladora de *H. australis* según el siguiente criterio: valores BSAF > 2 son clasificados como macroconcentradores, valores  $1 < \text{BSAF} < 2$  son microconcentradores y valores < 1 son des-concentradores (Usero *et al.*, 2005; Berandah *et al.*, 2010).

Para comparar la variación entre los distintos puntos de muestreo, del contenido de metales en los tejidos blandos de *H. australis* se calculó el índice de contaminación metálica (**MPI**) (Usero *et al.*, 1997) según la siguiente ecuación:

$$\text{MPI} = (Cf_1 \times Cf_2 \dots Cf_n)^{1/n}$$

Donde  $Cf_1$  es la concentración del primer metal en los tejidos blandos de *Heleobia australis*, colectada en un punto de muestreo específico;  $Cf_n$  es la concentración del enésimo metal medido y n es el número de metales medidos.

También se calculó el índice de carga contaminante **PLI** (Pollution Load Index) para *Heleobia australis* del mismo modo que se realizó para sedimentos (Tomlinson *et al.*, 1980). El índice de carga contaminante se ha utilizado en organismos, como parte de control de la biodisponibilidad de contaminantes en mejillones. Para calcular el PLI se debe establecer un nivel de background que, para ese tipo de comparaciones, se utiliza el menor valor obtenido o sacado de literatura para el mismo organismo (Angulo, 1996) Para el presente estudio se utilizaron como background los valores del sitio menos impactado de acuerdo con los resultados obtenidos de concentraciones de metal en *Heleobia australis* y comparación de los resultados de MPI. Se le llama  $PLI_{Hel}$ . Para diferenciarlo del PLI calculado para sedimentos.

#### **4.6.3. Análisis estadísticos.**

Se realizaron análisis de correlación lineal de Spearman con los resultados de concentración de metales en biota y en sedimento, datos granulométricos y los datos fisicoquímicos de las diferentes matrices ambientales de cada sitio, por medio del software PAST v4.03 (Hammer *et al.*, 2001). En la matriz ambiental general que incluye todas las variables, se evalúan las correlaciones con un nivel de significancia de  $p < 0,05$ . De acuerdo con las correlaciones obtenidas se eliminan las variables que no hayan tenido correlaciones con otras variables y aquellas con menor número de correlaciones y se trabaja con una matriz ambiental acotada que incluye las variables que correlacionaron mejor con el contenido de metales en *H. australis*.

Se realizó un análisis de componentes principales (ACP) para las variables ambientales fisicoquímicas de cada sitio de muestreo usando las variables de la matriz ambiental acotada. Este análisis busca establecer agrupamientos de sitios de muestreos con similares características que puedan ser explicadas por una menor cantidad de variables. Para el análisis ACP, las variables ambientales se expresaron todas en partes por millón (ppm). Se estandarizaron todas las variables restándoles la media y luego dividiendo por su desvío estándar. El análisis ACP se realizó con el software PAST v4.03 (Hammer *et al.*, 2001). Se realizó un segundo análisis de ACP que incluye como variables todos los índices calculados para sedimentos y biota para estudiar si esos índices son capaces de agrupar los sitios de muestreo del mismo modo que las variables ambientales fisicoquímicas.

## 5- Resultados.

### 5.1- Resultados análisis fisicoquímicos de Aguas

#### 5.1.1-pH.

Se analizó el pH de las aguas de los sitios de muestreo establecidos obteniéndose los siguientes resultados representados en la Figura 22.

Los valores mínimos se registraron en la playa de Punta Carretas y en la playa del Puerto del Buceo (6.56 y 6.54) siendo muy cercanos al mínimo del rango establecido por el Decreto 253/79 para la clase III y IIb que es de 6.50. Los valores máximos se encontraron en Laguna de Rocha y en la playa de Punta Yeguas. Los valores de pH para los siete puntos cayeron en el rango de 6,5 a 8,5 definidos en el decreto 253/79 para la clase III y IIb con la aclaración de la cercanía de esos dos valores al mínimo admitido.

	pH
Punta Yeguas	8.00
Bahía Olímpico	7.28
Bahía Pantanoso	7.09
Punta Carretas	6.56
Puerto del Buceo	6.54
Arroyo S. Grande	7.89
Laguna de Rocha	8.04

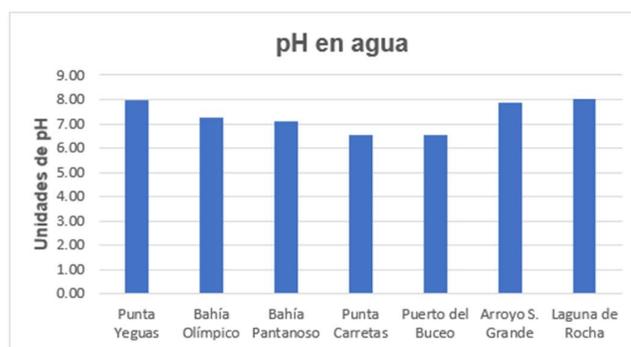


Figura 22. Resultados de pH en aguas de los siete sitios de muestreo.

Se corrieron estándares de pH certificados, fabricados por el Departamento de Metrología Química del LATU. Para el estándar MRC.ELE.003 Lote004 de valor certificado 4.006 se obtuvo un valor de 4.040, para el estándar MRC.ELE.004 Lote004 de valor certificado 6.865 se obtuvo un valor de 6.890 y para el estándar MRC.ELE.004 Lote003 de valor certificado 10.021 se obtuvo un valor de 10.075. Los tres valores fueron satisfactorios. Así mismo se participa de manera regular en ensayos interlaboratorios de LGC Aquacheck presentando valores conformes en todas las distribuciones.

### 5.1.2- Conductividad / Salinidad.

Las medidas de conductividad obtenidas fueron transformadas a salinidad por el método de la escala práctica de salinidad. Los mayores resultados se corresponden al mismo día de muestreo donde se aprovechó un viento norte fuerte que sopló durante dos días para acceder a los puntos de muestreo (Figura 23) El agua estaba bien clara indicando una fuerte influencia marina que se refleja en los niveles de salinidad de entre 28.5 y 30.7 ‰ para los sitios de muestreo de Punta Yeguas y los dos puntos de Bahía de Montevideo: desembocadura del Arroyo Pantanoso y Estadio Olímpico.

Para el control de calidad se utiliza el material certificado, fabricado por el Departamento de Metrología Química del LATU MRC.ELE.107 Lote 005 de 1410.8  $\mu\text{S}/\text{cm}$  dando resultados satisfactorios (1412  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ). Así mismo se participa de manera regular en ensayos interlaboratorios de LGC Aquacheck presentando valores conformes en todas las distribuciones.



Figura 23. Resultados de conductividad y salinidad en aguas de los siete sitios de muestreo.

### 5.1.3- Fosfato y Fósforo Total.

Los análisis de fósforo total y de fosfato en las aguas de los siete sitios de muestreo, dieron los mayores valores en los dos puntos de la Bahía de Montevideo. El valor máximo para los dos analitos se dio en el punto de la desembocadura del Arroyo Pantanoso. El siguiente sitio con mayor concentración tanto de fósforo total como de fosfato es la playa de Punta Yeguas. El fosfato dio cuantificable solamente para los tres puntos antes señalados siendo no cuantificable o no detectables para el resto de los sitios de muestreo. El fosfato y fósforo total siguen la misma tendencia de aumento

desde el sitio de Punta Yeguas hasta el sitio del Pantanoso pasando por el punto del Estadio Olímpico que presenta concentraciones medias (Figura 24).

	Fosfato $\mu\text{g/L}$ $\mu\text{g/L}$ (como P)	Fósforo Total $\mu\text{g/L}$ $\mu\text{g/L}$ (como P)
Punta Yeguas	92	192
Bahía Olímpico	140	339
Bahía Pantanoso	324	408
Punta Carretas	<12	113
Puerto del Buceo	<12	122
Arroyo S. Grande	ND	103
Laguna de Rocha	ND	72
Límite de detección (LOD)	5	11
Límite de cuantificación (LOQ)	12	23

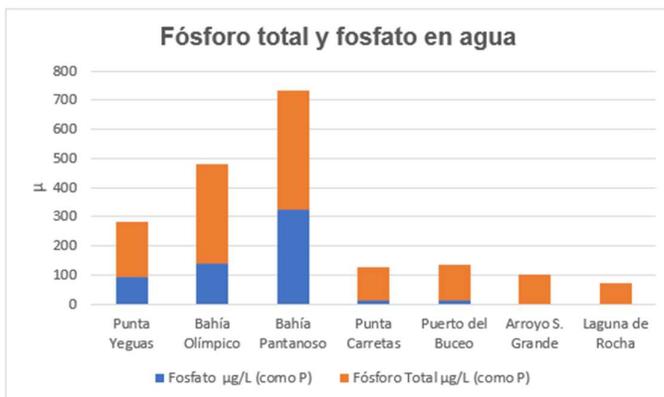


Figura 24. Resultados de los análisis de fósforo total y fosfato.

Para todos los puntos se supera el valor establecido en el decreto 253/79 para el fósforo total para la clase III y IIb que es de 25  $\mu\text{g/L}$ .

Se analizó material certificado Inorganic Ventures NUT 2 lote R2-NUT688021 que tiene valores certificados para Fósforo total. El valor certificado de Fósforo total es de  $9,77 \pm 0,06$  mg/L (como P) obteniéndose un valor de 9,46 mg/L lo que da una recuperación del 96,8%. Los límites de detección y cuantificación del método de Fósforo total son de 11 y 23  $\mu\text{g/L}$  (como P) respectivamente.

Se analizó material certificado multielemento de aniones, Inorganic Ventures IC FAS 1A lote P2-MEB680049 que tiene valores para fósforo de  $149.9 \pm 0,8$  mg/L (como  $\text{PO}_4$ ). Se obtuvieron para cada uno de los dos niveles de concentración analizados dentro del rango de trabajo, recuperaciones superiores al 98 %. Los límites de detección y cuantificación del método de fosfato son de 5 y 12  $\mu\text{g/L}$  (como P) respectivamente.

#### 5.1.4- Nitrato, nitrito y sulfato.

Se analizaron los aniones nitrato, nitrito y sulfato por cromatografía iónica obteniéndose los siguientes resultados mostrados en la Tabla 5 para cada uno de los sitios de muestro. Para cada parámetro se muestra el límite de detección (LOD) del método y el límite de cuantificación (LOQ).

Tabla 5: Análisis de aniones en aguas (Nitrato, nitrito y sulfato) de cada sitio.

	<b>Nitrato mg/L (como N)</b>	<b>Nitrito mg/L (como N)</b>	<b>Sulfato mg/L</b>
<b>Punta Yeguas</b>	0.12	ND	2785
<b>Bahía Olímpico</b>	1.41	ND	2565
<b>Bahía Pantanoso</b>	1.50	ND	2573
<b>Punta Carretas</b>	0.42	ND	638
<b>Puerto del Buceo</b>	0.66	ND	824
<b>Arroyo S. Grande</b>	0.14	ND	1340
<b>Laguna de Rocha</b>	0.019	ND	555
Límite de detección (LOD)	0.005	0.005	0,12
Límite de cuantificación (LOQ)	0.016	0.016	0.30

Los mayores valores de nitrato en agua analizados corresponden a los dos sitios de la Bahía de Montevideo con un máximo en la desembocadura del Arroyo Pantanoso de 1,50 mg/L (como N). Estos valores se encuentran muy por debajo de los límites establecidos en el Decreto 253/79 para las clases III y IIb de 10 mg/L (como N)

Los mayores valores de sulfato en agua analizados corresponden a los sitios de Punta Yeguas y a los dos sitios de la Bahía de Montevideo, Estadio Olímpico y Arroyo Pantanoso. El máximo se da en Punta Yeguas con un valor de 2785 mg/L (Figura 25).

El patrón de concentraciones de sulfato es muy similar al patrón de las salinidades lo cual se explicaría por los altos niveles de sulfato en las aguas marinas. Se analizarán más adelante las correlaciones para confirmar esta presunción.

Se analizó material certificado multielemento de aniones, Inorganic Ventures IC FAS 1A lote P2-MEB680049 que tiene valores certificados para sulfato de  $149.9 \pm 0,7$  mg/L, para nitrato de  $99,9 \pm 0,5$  mg/L (como NO<sub>3</sub>) y para nitrito de  $99,9 \pm 0,5$  mg/L (como NO<sub>2</sub>). Se obtuvieron para cada uno de los dos niveles de concentración analizados dentro del rango de trabajo, recuperaciones superiores al 95 % para los tres aniones.

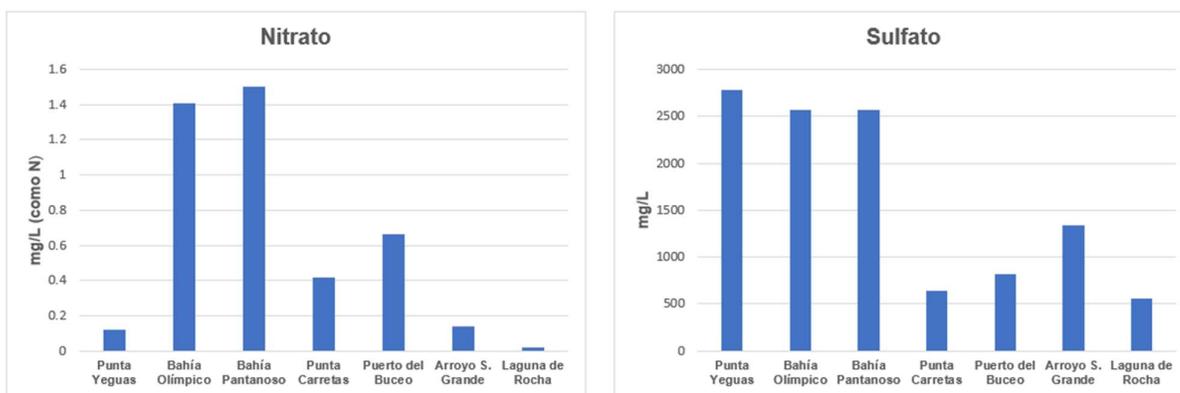


Figura 25. Resultados de los análisis de nitrato y sulfato en aguas para los siete sitios de muestreo.

### 5.1.5- Oxígeno disuelto.

Se analizó la concentración de oxígeno disuelto ( $O_2$  disuelto) en las aguas de los siete sitios de muestreo. Para todos los sitios el oxígeno disuelto superó el mínimo establecido en el Decreto 253/79 para las clases III y IIb que es de 5 mg/L. Los puntos de menor concentración de  $O_2$  disuelto fueron los puntos de Bahía de Montevideo, estadio Olímpico 6.08 mg/L y Arroyo Pantanoso 5.66 mg/L (Figura 26).

Para el análisis se calibró la sonda al 100% de saturación con agua previamente aireada, se ajustó el barómetro interno con los datos de INUMET y se cargaron los valores de salinidad de cada punto para que la medida fuera acorde a la matriz y a las condiciones ambientales.

	$O_2$ disuelto mg/L
Punta Yeguas	7.44
Bahía Olímpico	6.08
Bahía Pantanoso	5.66
Punta Carretas	8.07
Puerto del Buceo	7.85
Arroyo S. Grande	8.13
Laguna de Rocha	8.46

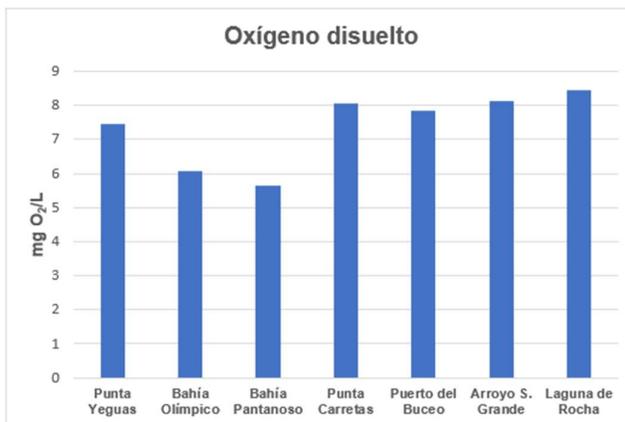


Figura 26. Resultados de oxígeno disuelto para cada una de las aguas de los sitios de muestreo.

### 5.1.6- Turbiedad.

Los resultados de los análisis de turbiedad marcan una tendencia creciente desde el sitio de Punta Yeguas hasta el Puerto del Buceo donde se da el mayor valor de 45 NTU (Figura 27). Todos los valores son inferiores al límite máximo establecido en el Decreto 253/79 para la clase III y la clase IIb que son de 50 NTU.

	Turbiedad NTU
Punta Yeguas	4.4
Bahía Olímpico	16
Bahía Pantanoso	25
Punta Carretas	38
Puerto del Buceo	45
Arroyo S. Grande	1.4
Laguna de Rocha	7.4

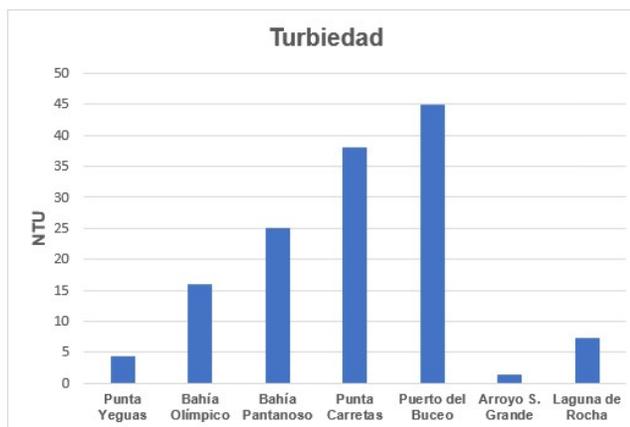


Figura 27. Resultados del parámetro turbiedad en los siete sitios de muestreo.

A pesar de que los muestreos se realizaron en diferentes días lo que no permite marcar una tendencia clara, los máximos se dan en la zona entre la Bahía de Montevideo y el Puerto del Buceo que coincide con la zona donde generalmente se mueve el frente de máxima turbiedad del Río de la Plata.

### 5.1.7- Clorofila a.

Los resultados de clorofila *a* en las aguas, dieron cuantificables solo en dos sitios. Estos son el sitio de la Bahía de Montevideo Estadio Olímpico y en la playa del Puerto del Buceo con un máximo de 2,1 mg/m<sup>3</sup> en ese punto (Figura 28).

Como control de calidad del análisis de clorofila se analizó el estándar de clorofila adquirido de Sigma-Aldrich P/N 1116774-15MG United States Pharmacopeia (USP) Reference Standard. Al no existir un material de referencia certificado ni de valor declarado de clorofila, se utiliza este material asumiendo un 100% de pureza cuando lo declarado es mayor de 95%. Se realizaron curvas de calibración con este material y se analizaron diferentes concentraciones por medio del método espectrofotométrico. Se calculó la recuperación para cada dilución obteniéndose recuperaciones que oscilaron entre 103 y 114%.

	Clorofila mg/m <sup>3</sup>
Punta Yeguas	ND
Bahía Olímpico	1.5
Bahía Pantanoso	<1.5
Punta Carretas	ND
Puerto del Buceo	2.1
Arroyo S. Grande	<1.5
Laguna de Rocha	<1,5
Límite de detección (LOD)	0,6
Límite de cuantificación (LOQ)	1,5

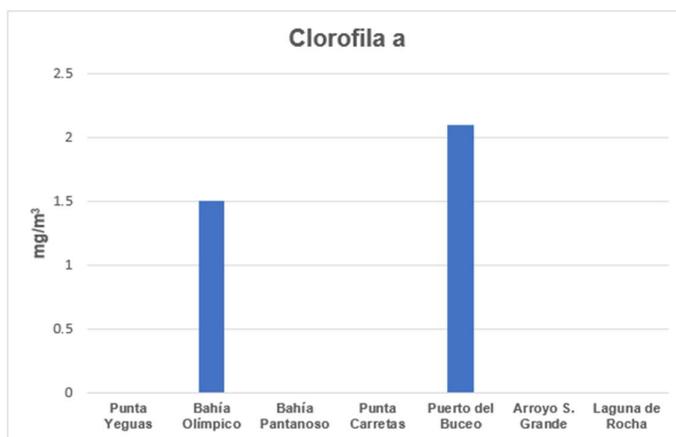


Figura 28. Resultados de clorofila a, en aguas de los siete sitios de muestreo.

### 5.1.8- Sólidos Suspendedos Totales.

Los resultados de los análisis de sólidos suspendidos totales (SST) en agua se muestran en la Figura 29 para cada uno de los sitios. El mayor valor se encontró en el sitio de Punta Carretas con 49,2 mg/L. Le siguen los sitios de Puerto del Buceo y los dos puntos de la Bahía (Arroyo Pantanoso y Estadio Olímpico) con valores cercanos a los 40 mg/L. Los sitios de Punta Yeguas, Arroyo Solís Grande y Laguna de Rocha no superan los 12 mg/L siendo el valor mínimo en Laguna de Rocha con una concentración de 7,4 mg/L.

Para evaluar la recuperación del método se analizó un material certificado Inorganic Ventures QCP SLD lote E2-SLD2008 de valor certificado de 30,9 mg/L obteniéndose una recuperación del 100,3%

	Sólidos suspendidos totales mg/L
Punta Yeguas	8.0
Bahía Olímpico	39.0
Bahía Pantanoso	41.0
Punta Carretas	49.2
Puerto del Buceo	45.0
Arroyo S. Grande	11.9
Laguna de Rocha	7.4
Límite de detección (LOD)	1,0
Límite de cuantificación (LOQ)	3,0

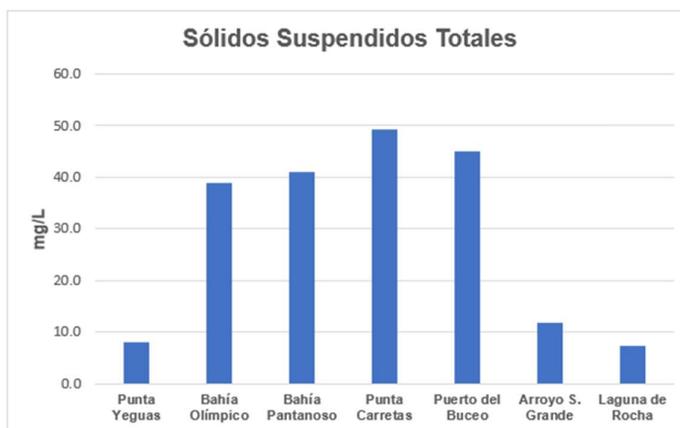


Figura 29. Resultados del análisis de Sólidos Suspendedos Totales (SST) en aguas.

### 5.1.9- TOC, y TN.

Se analizaron las aguas de los sitios de muestreo para los parámetros Nitrógeno Total (TN) y Carbono Orgánico Total (TOC) obteniéndose los valores resumidos en la Figura 30.

Las mayores concentraciones de TN correspondieron a los dos puntos de la Bahía de Montevideo con un máximo de 1,61 mg/L en la desembocadura del Arroyo Pantanoso. Los sigue el Puerto del Buceo con 1,19 mg/L. La menor concentración fue en Punta Yeguas con 0,26 mg/L. Las mayores concentraciones de TOC corresponden a los sitios de Laguna de Rocha y Arroyo Solís Grande con valores de 7,8 y 7,6 mg/L respectivamente. La menor concentración fue en Punta Yeguas con 2,0 mg/L.

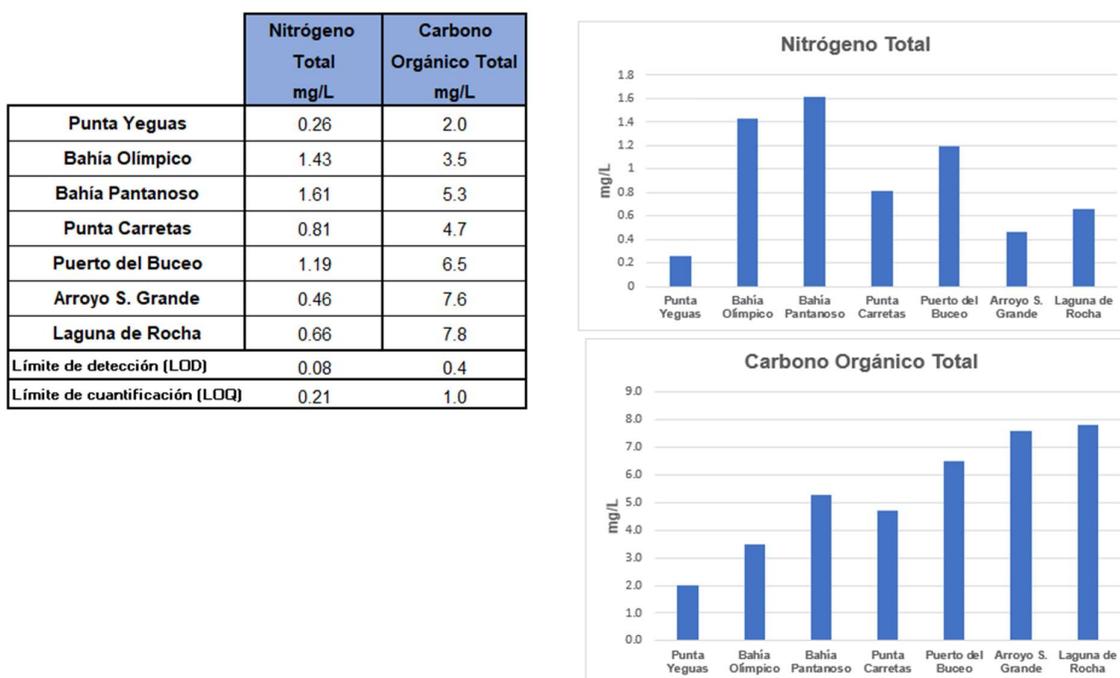


Figura 30. Resultados de Nitrógeno total (TN) y de carbono orgánico total (TOC) en aguas.

Para ambos análisis se participan en ensayos de interlaboratorios periódicamente. Luego de evaluar los resultados conformes del interlaboratorio, se utiliza como muestra de control interno para analizarla al principio del batch de corrida, cada 10 muestras y al final. Se llevan gráficos de control para evaluar que las condiciones de validación se cumplan durante los análisis. Adicionalmente se analizaron estándares certificados de TOC marca Inorganic Ventures QCP-DMD Lote F201074 de 8,63 mg C/L de valor certificado  $8,41 \pm 0,25$  mg C/L. dando un resultado de 8,63 mg/L (102.6 % de recuperación). Para el ensayo de Nitrógeno total se corrió estándar certificado

marca RTC Complex Nutrient Lote 018783 de valor certificado  $27,4 \pm 1,98$  mg/L, dando un resultado de 28,2 mg/L (102,9% de recuperación).

## 5.2- Resultados análisis de Sedimentos

### 5.2.1- Resultados fisicoquímicos de Sedimentos.

#### 5.2.1.1- Distribución de tamaño de partículas.

Se realizaron los análisis sobre la fracción menor a 2 mm previo pasaje por tamiz. Se tomaron para los análisis de granulometría el primer centímetro del sedimento el cual se liofiliza durante 24 Hs. Los únicos dos puntos que presentaron tamaños de grano superiores a 2 mm fueron Punta Carretas y Puerto del Buceo. En sedimento de punta Carretas presentó un 46% de material de tamaño superior a los 2mm: 18% de grava muy fina (entre 2 y 4 mm) y un 28% de granos mayores a 4 mm. El sedimento del Puerto del Buceo presentó un 17% de material de tamaño superior a los 4 mm.

Se presentan los resultados de los análisis de distribución de tamaño de partícula por láser de los sedimentos de cada uno de los sitios de muestreo en la Tabla 6.

Se resaltan en negrita para cada uno de los sitios, los mayores valores porcentuales. En 4 de los 5 sitios costeros de Montevideo la clase mayormente representada fue la de arena fina (entre 100 y 250 micras) con la excepción de Punta Carretas que al igual que el Arroyo Solís Grande y en la Laguna de Rocha, la clase mayoritaria es la arena media (entre 250 y 500 micras). En la playa del Puerto del Buceo la segunda clase representada con un porcentaje similar al de la arena fina, es la fracción de limo.

Tabla 6. Distribución de tamaño de partícula de sedimentos agrupados por clases.

		Punta Yeguas	Bahía Estadio Olímpico	Bahía Arroyo Pantanoso	Punta Carretas	Puerto Buceo	Arroyo Solís Grande	Laguna de Rocha
Distribución de tamaño de partícula	Rango ( $\mu\text{m}$ )	%	%	%	%	%	%	%
Arcilla	<2	0.00	0.00	0	0.00	0.33	0	0
Limo	2-50	0.31	0.39	0.39	2.07	<b>31.67</b>	0	8.79
Arena muy fina	50-100	3.12	4.15	3.82	5.37	27.26	0.42	0.8
Arena fina	100-250	<b>85.91</b>	<b>63.02</b>	<b>68.64</b>	16.55	<b>34.53</b>	28.58	7.91
Arena media	250-500	10.66	29.59	26.78	<b>47.52</b>	5.52	<b>68.42</b>	<b>41.01</b>
Arena gruesa	500-1000	0.00	2.85	0.37	19.33	0.69	2.58	<b>38.78</b>
Arena muy gruesa	1000-2000	0.00	0.00	0	9.16	0	0	2.71

Se calcularon para cada sitio los parámetros granulométricos de tamaño medio grado de selección, asimetría gráfica y angulosidad o Kurtosis propuestos por Folk & Ward, 1957. Los resultados se muestran en la Tabla 7.

El tamaño medio del grano para los sitios de Punta Yeguas, Estadio Olímpico, Arroyo pantanoso corresponden con la clasificación de arena fina, el sedimento de la playa del Puerto del Buceo se clasificaría como arena muy fina, mientras que en el resto de los sitios el tamaño medio del grano se corresponde con la clasificación de arena media.

Tabla 7 Parámetros granulométricos de los sedimentos calculados de acuerdo con Folk & Ward, 1957.

		Punta Yeguas	Bahía Estadio Olímpico	Bahía Arroyo Pantanoso	Punta Carretas	Puerto Buceo	Arroyo Solis Grande	Laguna de Rocha
Tamaño medio	<b>Mz:</b>	175.5	218.5	207.4	447.9	80.05	297.1	458.3
Grado de selección	<b><math>\sigma_1</math> :</b>	54.41	92.8	75.1	399.50	77.19	85.67	246.3
Asimetría gráfica	<b>Ski:</b>	0.177	0.2249	0.1264	0.50	0.315	0.1101	0.0532
Angulosidad (kurtosis)	<b>Kg:</b>	1.099	1.226	1.078	2.258	1.164	1.061	1.121

En la Figura 31 están representadas las diferentes proporciones de cada fracción de tamaño de grano para cada uno de los sitios analizados. Los sitios con mayor porcentaje de partículas menores de 50 micras (limo y arcilla) son la playa del Puerto del Buceo, la Laguna de Rocha y la playa de Punta Carretas con 32.0, 8.79 y 2,07% respectivamente.

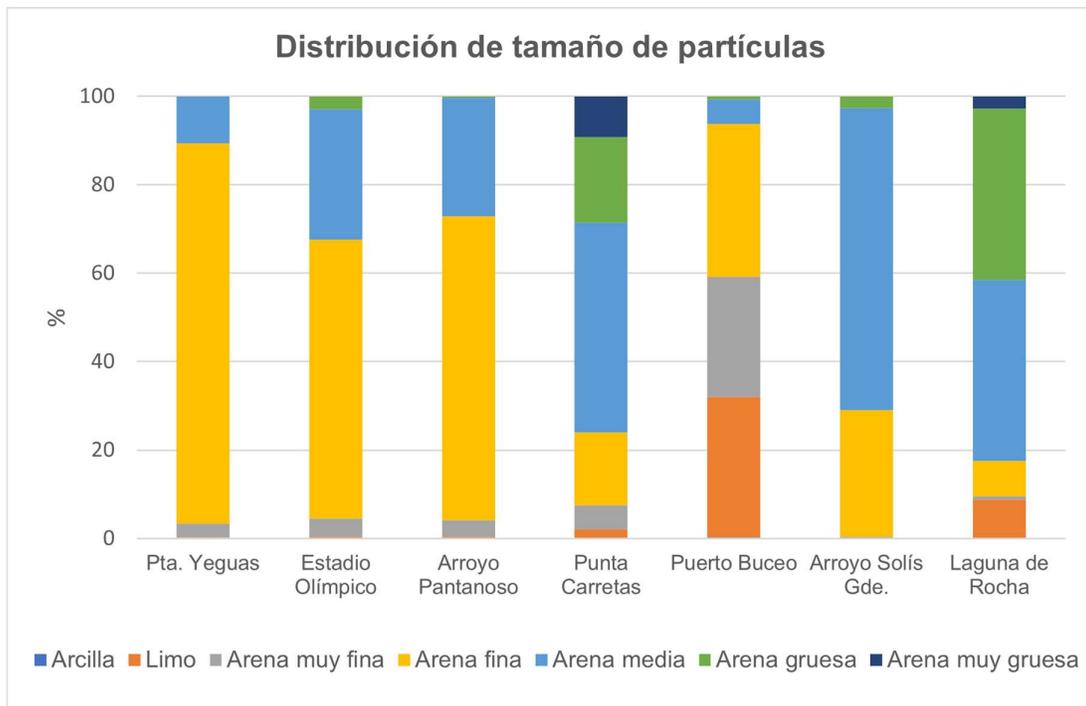


Figura 31. Granulometría de los sedimentos de los siete sitios de muestreo según % del tamaño de grano, agrupado en las fracciones de arcilla, limo y las diferentes clases de arena

Los resultados muestran una muy buena selección de los sedimentos para los sitios de Punta Yeguas, los dos puntos de la Bahía de Montevideo (Olímpico y Pantanoso), Puerto del Buceo y el Arroyo Solís Grande y una buena selección para el sedimento de la Laguna de Rocha. Para el caso del sedimento de Punta Carretas se clasifica como moderadamente seleccionado (figura 32).

Grado de selección	$\sigma_1$ (Phi)	Clasificación
>4		Muy pobremente seleccionado
2-4		Pobremente seleccionado
1-2		Moderadamente seleccionado
0.5-1		Bien seleccionado
0.35-0.5		Muy bien seleccionado
<0.35		Muy bien seleccionado

	$\sigma_1$ ( $\mu\text{m}$ )	$\sigma_1$ (Phi)	Grado de selección
Punta Yeguas	54.41	0.24	Muy bien seleccionado
Bahía Olímpico	92.8	0.29	Muy bien seleccionado
Bahía Pantanoso	75.1	0.27	Muy bien seleccionado
Punta Carretas	399.50	0.76	Moderadamente seleccionado
Puerto del Buceo	77.19	0.27	Muy bien seleccionado
Arroyo S. Grande	85.67	0.28	Muy bien seleccionado
Laguna de Rocha	246.3	0.49	Bien seleccionado

Figura 32. Grado de selección de los sedimentos (Folk & Ward, 1957); clasificación y resultados.

Para todos los sitios de muestreo, los sedimentos presentan asimetría gráfica positiva con la única excepción de la Laguna de Rocha que muestra una gráfica simétrica (Figura 33). En el caso de los sitios Punta Carretas y Puerto del Buceo la asimetría gráfica es muy positiva. Esto muestra un corrimiento de la media hacia la izquierda de la mediana, indicando la existencia de una cola de materiales finos para todos los sitios con la excepción de Laguna de Rocha. Asimetrías gráficas positivas indican que la energía cinética se desplaza hacia valores más bajos de lo normal.

Asimetría gráfica	-1 - -0.3	Muy asimétrica negativa
Ski:	-0.3 - -0.1	Asimétrica negativa
	-0.1 - +0.1	Aproximadamente simétrica
	+0.1 - +0.3	Asimétrica positiva
	+0.3 - +1	Muy asimétrica positiva

	Ski:	Asimetría gráfica
Punta Yeguas	0.177	Asimétrica positiva
Bahía Olímpico	0.2249	Asimétrica positiva
Bahía Pantanoso	0.1264	Asimétrica positiva
Punta Carretas	0.50	Muy asimétrica positiva
Puerto del Buceo	0.315	Muy asimétrica positiva
Arroyo S. Grande	0.1101	Asimétrica positiva
Laguna de Rocha	0.0532	Aproximadamente simétrica

Figura 33. Asimetría gráfica de los sedimentos (Folk & Ward, 1957); clasificación y resultados.

El parámetro de angulosidad o kurtosis analizado a partir de los resultados de la distribución de tamaño de partículas muestra curvas mesocúrticas para los sitios de Punta Yeguas, la desembocadura del Arroyo Pantanoso y para el Arroyo Solís Grande (Figura 34). Los sedimentos de la Bahía de Montevideo – Estadio Olímpico, playa del Puerto del Buceo y de la Laguna de Rocha tienen distribuciones leptocúrticas. Las curvas leptocúrticas indican oscilaciones de energía cinética media concentrada en el 50% central de las curvas de distribución, en tiempos superiores a lo normal. El sedimento de la playa de Punta Carretas tiene una distribución muy leptocúrtica.

Angulosidad (kurtosis)	<0.67	Muy platicúrtica
Kg:	0.67-0.90	Platicúrtica
	0.90-1.11	mesocúrtica
	1.11-1.50	leptocúrtica
	1.50-3	muy leptocúrtica
	>3	extremadamente leptocúrtica

	Kg:	Angulosidad (kurtosis)
Punta Yeguas	1.099	mesocúrtica
Bahía Olímpico	1.226	leptocúrtica
Bahía Pantanoso	1.078	mesocúrtica
Pta. Carretas	2.258	muy leptocúrtica
Puerto Buceo	1.164	leptocúrtica
Arroyo S. Grande	1.061	mesocúrtica
Laguna de Rocha	1.121	leptocúrtica

Figura 34. Angulosidad de los sedimentos (Folk & Ward, 1957); clasificación y resultados.

Las gráficas de la Figura 35 nos muestran distribuciones unimodales para Punta Yeguas, los dos puntos de Bahía de Montevideo (Olímpico y Pantanoso) y para el

Arroyo Solís Grande. Las distribuciones de los otros sitios son más complejas, presentando varias modas. El sedimento de laguna de Rocha es bimodal, presentando la primera concentración modal en el entorno de las 15 micras y una segunda moda (con mucho mayor porcentaje) con una concentración modal del entorno de las 700 micras (la media calculada es de 458 micras). El sedimento del Puerto del Buceo también presenta una distribución marcadamente bimodal con concentraciones modales máximas en el entorno de 8 micras y otra en el entorno de las 100 micras más abundante (la media calculada es de 80 micras). La distribución de tamaño de partículas para el sedimento de Punta Carretas presenta una cola de finos bien marcada y una gran acumulación en la cola de sedimentos gruesos de entre 1000 y 2000 micras. Se excluyen de los análisis las fracciones superiores a las 2000 micras que en el caso de Punta Carretas son muy abundantes.

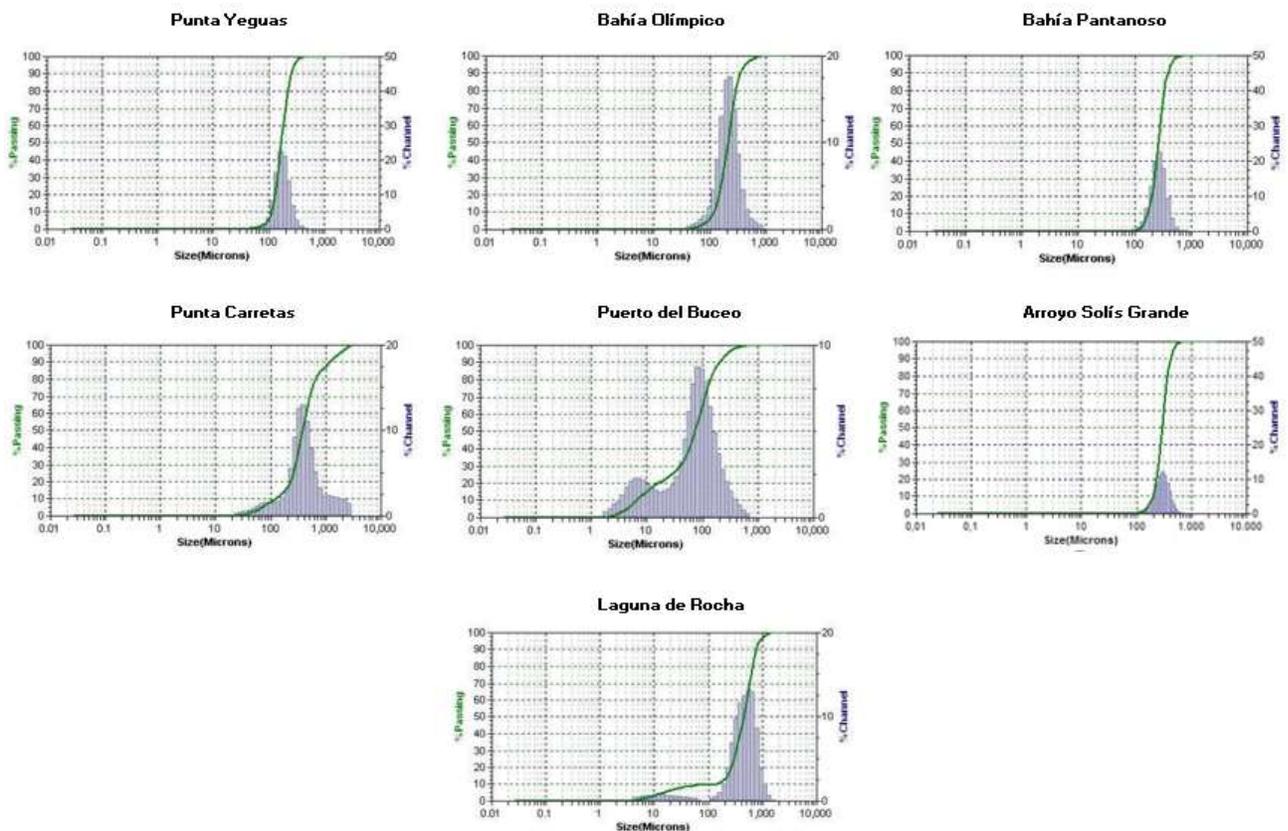


Figura 35. Distribuciones de tamaño de partículas para cada uno de los 7 sitios de muestreo.

Como control de calidad se corrieron dos estándares de esferas de vidrio marca Microtrac Reference Material GLASS 1 y GLASS 2. El estándar GLASS 1 viene presentado en ampollas de 5 mL compuestas por 1,5 g de polvo de vidrio, 0,06% de metafosfato de sodio y 0,06% de EDTA. El estándar GLASS 2 viene presentado en viales conteniendo 2 g de polvo de vidrio de tamaño de grano superior al del GLASS 1. Los resultados para ambos estándares fueron satisfactorios y se resumen en la Figura 36.

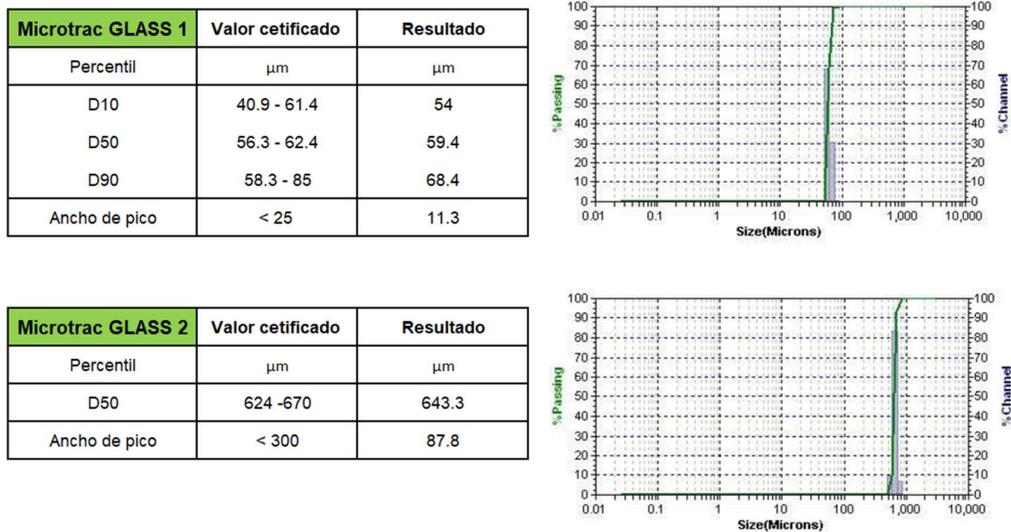


Figura 36. Resultado de estándares de distribución de tamaño de partículas con sus distribuciones correspondientes a la derecha de cada tabla.

### 5.2.1.2- Materia orgánica.

El análisis de la materia orgánica de los sedimentos dio resultados entre 0,52 y 3,55 g/100g (Figura 37). Los menores valores encontrados fueron el Punta Yeguas y en Laguna de Rocha. El mayor contenido de materia orgánica fue para el sitio de la playa del Puerto de Buceo. Se corrió una muestra interlaboratorio de suelo LGC-Aquacheck Sample 14 - Distribución 617, para materia orgánica por pérdida por ignición. El valor de referencia era de 5,06 g/100g y se obtuvo un valor de 4,89 g/100g (96,3% de recuperación) siendo computado como valor satisfactorio con un z-score de 0,28.

	Materia orgánica g/100g
Punta Yeguas	0.52
Bahía Olímpico	1.36
Bahía Pantanoso	1.96
Punta Carretas	1.92
Puerto del Buceo	3.55
Arroyo S. Grande	1.02
Laguna de Rocha	0.60

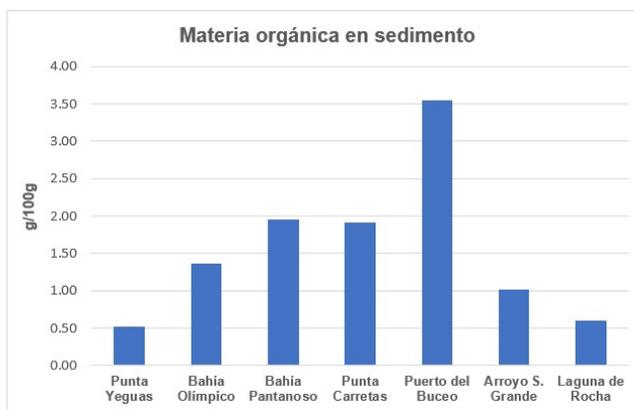


Figura 37. Porcentaje de materia orgánica en los sedimentos de los siete sitios de muestreo. Límite de cuantificación del método 0,1 g/100g.

### 5.2.1.3- Nitrógeno y Fósforo total.

Los dos sitios con mayor concentración de nutrientes en sedimento son los correspondientes a la Bahía de Montevideo. El sitio de la Bahía - Arroyo Pantanoso presenta la mayor concentración de Nitrógeno total y la segunda mayor concentración de Fósforo total. El sitio de la Bahía – Estadio Olímpico presenta la mayor concentración de Fósforo total y la segunda mayor concentración de Nitrógeno total (Tabla 8). Los sedimentos del Arroyo Solís grande y el punto de la Bahía de Montevideo correspondiente a la desembocadura del Arroyo Pantanoso, presentan una mayor concentración de Nitrógeno total respecto a la concentración de P total. Esta relación es inversa para el resto de los sitios de muestreo como se puede observar en la Figura 38.

Tabla 8. Resultados de nutrientes en sedimentos. Se muestran los datos del fósforo total, y el nitrógeno total calculado a partir de la suma de los resultados de nitrógeno Kjeldahl, nitrato y nitrito, expresados en base seca.

	Fósforo Total (como P)	Nitrógeno Kjeldahl (como N)	Nitrato (como N)	Nitrito (como N)	Nitrógeno Total (como P)
	mg/Kg	mg/Kg	mg/Kg	mg/Kg	mg/Kg
Punta Yeguas	226	139	<0.32	ND	139
Bahía Olímpico	1700	967	<0.32	ND	967
Bahía Pantanoso	445	1312	<0.32	<0.32	1312
Punta Carretas	404	242	0.91	ND	243
Puerto del Buceo	266	192	ND	ND	192
Arroyo S. Grande	47	301	3.41	ND	304
Laguna de Rocha	176	106	ND	ND	106
Límite de detección (LOD)	1.3	7,5	0,13	0,13	8,0
Límite de cuantificación (LOQ)	2.8	19	0.32	0.32	20

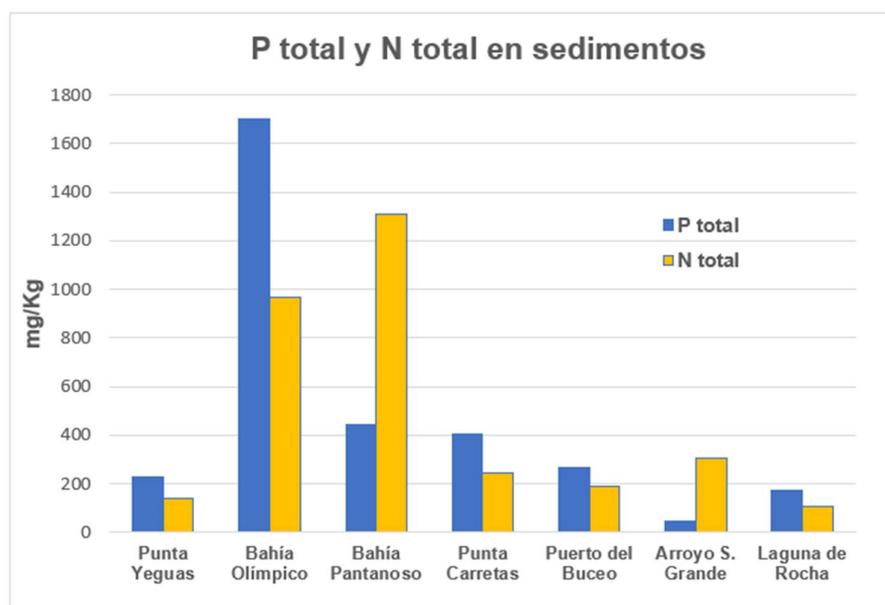


Figura 38. Representación gráfica de los resultados de fósforo y nitrógeno total para cada uno de los sedimentos de los sitios de muestreo.

Se analizó material certificado Inorganic Ventures NUT 2 lote R2-NUT688021 que tiene valores certificados para Nitrógeno Kjeldahl y para Fósforo total. El valor certificado de Nitrógeno Kjeldahl es de  $24,0 \pm 0,2$  mg/L, obteniéndose un valor de 21,6 mg/L lo que da una recuperación del 90,1%. El valor certificado de Fósforo total es de  $9,77 \pm 0,06$  mg/L obteniéndose un valor de 9,46 mg/L lo que da una recuperación del 96,8%. Los límites de detección y cuantificación del método de Fósforo total son de 1,3 y 2,8 mg/Kg respectivamente, para una toma de 1,0 g de sedimento. Para el análisis de Nitrógeno total los límites de detección y cuantificación del método son de 7,5 y 19 mg/Kg respectivamente, para una toma de 0,2 g de sedimento.

#### 5.2.1.4- Sulfatos y sulfuros volátiles en ácido.

Los resultados de sulfatos y sulfuros en sedimentos se muestran en la Tabla 9. Los valores máximos de sulfato fueron el sitio de Punta Carretas con un valor máximo de 3676 mg/Kg seguido del sitio del Pantanoso con 1892 mg/Kg. El valor mínimo de sulfato corresponde a la Laguna de Rocha.

Los análisis de sulfuros volátiles en ácido (AVS) muestran sus valores máximos para los puntos de la Bahía de Montevideo siendo el sedimento del punto del Pantanoso el de mayor concentración (28,5 mg/Kg) seguido de cerca por el punto del estadio olímpico (25,6 mg/Kg). El resto de los puntos tienen concentraciones no detectables con la excepción del sedimento del Puerto del Buceo que tiene una

concentración de 2,3 mg/Kg (Figura 39). Los límites de detección y cuantificación del método de sulfuro son de 0,8 y 1,8 mg/Kg respectivamente, para una toma de 50g de sedimento.

Tabla 9. Resultados de los análisis de sulfato y de sulfuro en sedimento en base seca, para cada uno de los sitios de muestreo.

	Sulfato mg/Kg	Sulfuro mg/Kg
Punta Yeguas	713	ND
Bahía Olímpico	568	25.6
Bahía Pantanoso	1892	28.5
Punta Carretas	3676	ND
Puerto del Buceo	1042	2.3
Arroyo S. Grande	1072	ND
Laguna de Rocha	342	ND
Límite de detección (LOD)	2,4	0,8
Límite de cuantificación (LOQ)	6,0	1,8

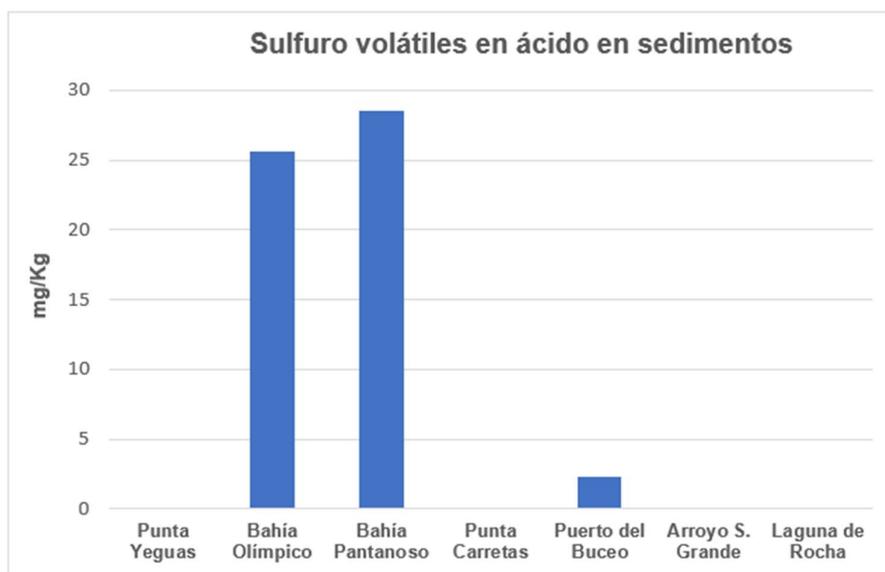


Figura 39. Diagrama de barras para las concentraciones de sulfuro en sedimento

### 5.2.1.5- Sustancias fenólicas.

El análisis de las sustancias fenólicas en sedimentos (expresadas como fenol en base seca) muestra tres sitios de muestreo con resultados cuantificables que son la playa de Punta Carretas, el Puerto del Buceo y el sitio de la Bahía de Montevideo de la desembocadura del Arroyo Pantanoso (Figura 40). El mayor valor corresponde a la playa de Punta Carretas con un valor de 0,11 mg/Kg.

	Sustancias fenólicas mg/Kg
Punta Yeguas	ND
Bahía Olímpico	ND
Bahía Pantanoso	0.029
Punta Carretas	0.11
Puerto del Buceo	0.040
Arroyo S. Grande	ND
Laguna de Rocha	ND
Límite de detección (LOD)	0.008
Límite de cuantificación (LOQ)	0,020

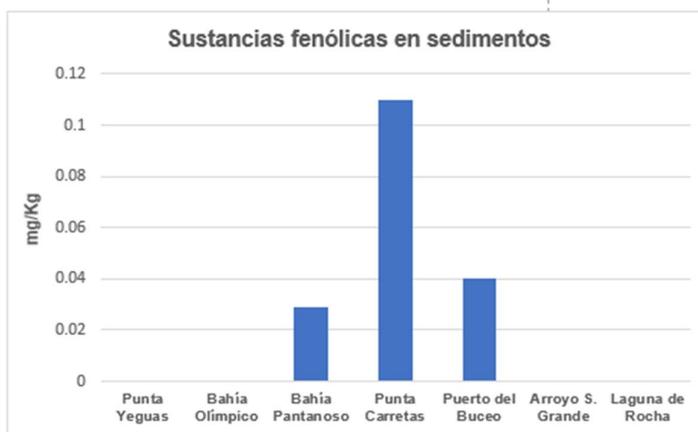


Figura 40. Resultados de análisis de sustancias fenólicas en sedimentos.

### 5.2.1.6- Clorofila a.

El análisis de clorofila a en el sedimento dio resultados no cuantificables para los sitios de playa de Punta Yeguas, Bahía de Montevideo desembocadura del Arroyo Pantanoso y playa de Punta Carretas (Figura 41). El valor más elevado fue en el sedimento del arroyo Solís Grande con una concentración de 1,70 mg/Kg.

	Clorofila a mg/Kg
Punta Yeguas	<0.05
Bahía Olímpico	0.45
Bahía Pantanoso	< 0,05
Punta Carretas	<0,05
Puerto del Buceo	0.3
Arroyo S. Grande	1.70
Laguna de Rocha	0.23
Límite de detección (LOD)	0.02
Límite de cuantificación (LOQ)	0.05

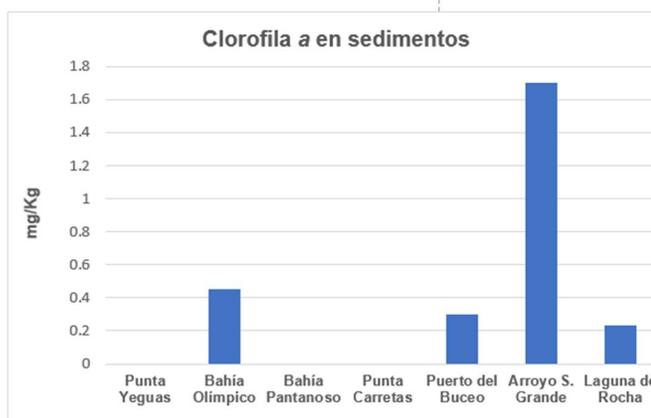


Figura 41. Concentraciones de clorofila a, en sedimentos (base seca).

## 5.2.2- Análisis de metales en sedimento.

Se analizaron los metales en los sedimentos liofilizados correspondientes al primer centímetro de los testigos colectados. Los resultados globales para cada metal analizado que incluyen la media, el desvío estándar, el máximo y el mínimo se incluyen en la Tabla 10. También se incluyen los valores TEL y PEL (MacDonald *et al*, 2000) para poder realizar una comparación rápida de posibles efectos tóxicos de los sedimentos.

Para el cobre, mercurio y plomo, los máximos encontrados superan el TEL. Ningún máximo de los metales analizados supera los PEL. Para los sitios donde el cobre, mercurio y el plomo superan los TEL, pero quedan por debajo de los PEL, no se puede concluir el potencial tóxico de los sedimentos. Para el resto de los metales que quedan por debajo del TEL, no se esperarían efectos tóxicos a priori.

Tabla 10. Resultados de la media, desvío estándar, mínimo y máximo de los metales analizados en sedimentos de la zona costera del Río de la Plata. Se incluyen los valores PEL y TEL (MacDonald *et al*, 2000)

	Concentración de metales en sedimento (mg/kg)							
	Cd	Cr	Cu	Sc	Hg	Ni	Pb	Zn
<b>Media</b>	0.039 (*)	14.3	14.0	1.96	0.054 (*)	3.89	12.8	27.0
<b>Desvío estándar</b>	-	12.0	17.5	1.15	-	3.20	16.2	25.9
<b>Mínimo</b>	ND	3.10	1.19	0.81	ND	1.07	1.27	5.63
<b>Máximo</b>	0.27	32.7	41.3	3.89	0.38	9.26	44.5	77.4
<b>PEL</b>	3.53	90	197		0.486	36.0	91.3	315
<b>TEL</b>	0.60	37.3	35.7		0.17	18.0	35.0	123
Límite de detección (LOD)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Límite de detección (LOQ)	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10

(\*) En solo una de las muestras se cuantificó cadmio y en otra mercurio por lo que el dato de media es el promedio con el resto de los valores no detectables.

Las concentraciones medias de metal en sedimentos, ordenadas de la mayor concentración analizada a la más pequeña, sigue el siguiente orden: Zn>Cr>Cu>Pb>Ni>Sc>Hg>Cd.

Para cada sitio de muestreo se analizaron todos los metales en 5 réplicas reales y se realizaron test de *outliers* por intermedio del software PAST v4.03 (Hammer *et al*, 2001), recalculando los promedios para cada metal si era necesario luego de quitar los *outliers*.

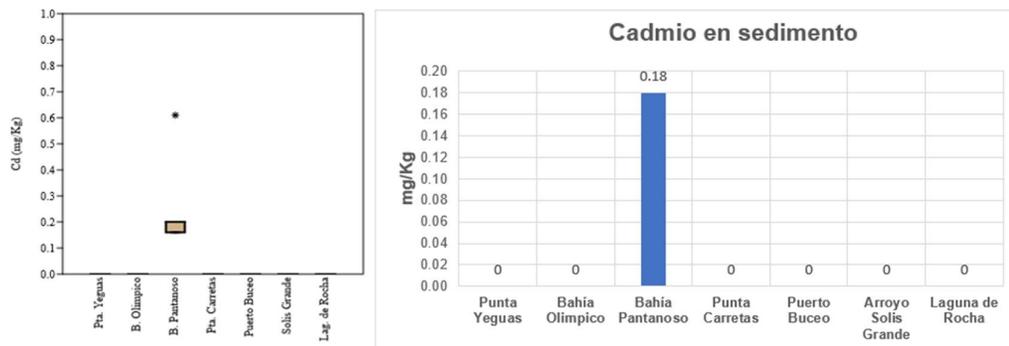
Para el control de calidad de las medidas se analizó el material de referencia certificado de metales en sedimento “NIST SRM 2702 Inorganics in marine sediment” que tiene valores certificados y/o de referencia para todos los metales a determinar (Figura 42). Los resultados obtenidos fueron superiores al 90 % para todos los casos y en el caso del escandio la recuperación fue del 85 % por lo cual todos los resultados de recuperación fueron satisfactorios.

		Resultados de análisis de material certificado (mg/Kg)							
NIST 2702		Cr	Ni	Cu	Zn	Cd	Pb	Hg	Sc
Control de calidad de sedimento	Valor obtenido	317.8	74.8	114.4	471.6	0.754	126.4	0.4413	22.02
	Valor certificado	352.0	75.4		485.3	0.817	132.8	0.4474	25.90
	Recuperación	90%	99%		97%	92%	95%	99%	85%
	Valor referencia			117.7					
	Recuperación			97%					

Figura 42. Resultados de recuperación de metales en sedimento con material certificado NIST 2702

El límite de detección para metales en sedimento se calculó como tres veces la señal del blanco de digestión, afectada por el factor de dilución de la digestión de la muestra. Así mismo el límite de cuantificación es el punto más bajo del rango lineal afectado por el factor de dilución de la digestión. Los límites varían con la sensibilidad diaria del equipo, con el blanco de digestión y con la masa de muestra disponible. Por ello se fijaron los límites de detección y cuantificación en 0,05 y 0,10 mg/Kg respectivamente ya que cubren las variaciones de los valores calculados día a día del límite de detección y cuantificación.

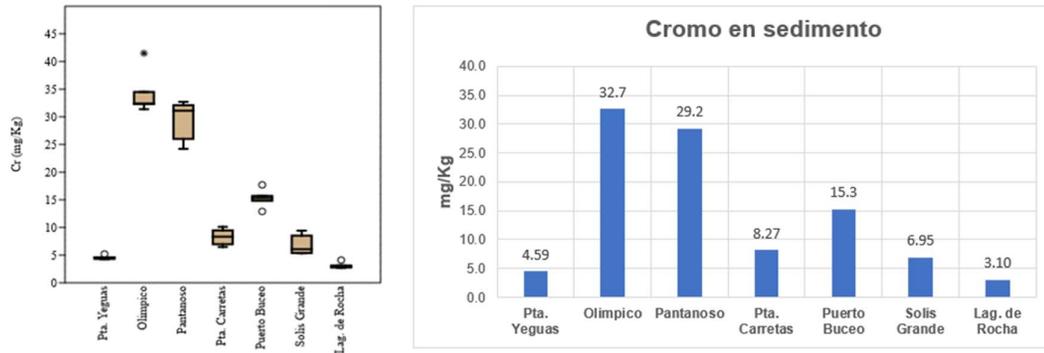
Los análisis de cadmio en sedimentos dieron cuantificables solo para el punto de la desembocadura del Arroyo Pantanoso con un promedio final de 0,18 mg/Kg. El resto de los sitios fueron no detectados (límite de detección de 0,05 mg/Kg) (Figura 43).



Cd	Punta Yeguas	Bahía Olímpico	Bahía Pantanoso	Punta Carretas	Puerto Buceo	Arroyo Solis Grande	Laguna de Rocha
	ND	ND	0.20	ND	ND	ND	ND
	ND	ND	0.16	ND	ND	ND	ND
	ND	ND	0.20	ND	ND	ND	ND
	ND	ND	(0,61) *	ND	ND	ND	ND
	ND	ND	0.16	ND	ND	ND	ND
Promedio	ND	ND	0.18	ND	ND	ND	ND
Desvío estándar	-	-	0.023	-	-	-	-
RSD(%)	-	-	12.8	-	-	-	-

Figura 43. Resultados de análisis de cadmio en sedimentos. Resultados marcados entre paréntesis no se incluyen en el cálculo del promedio, desvío estándar y desvío estándar relativo RSD(%). Se incluye además diagrama de Box Plot para test de outliers y gráfica de concentraciones por punto.

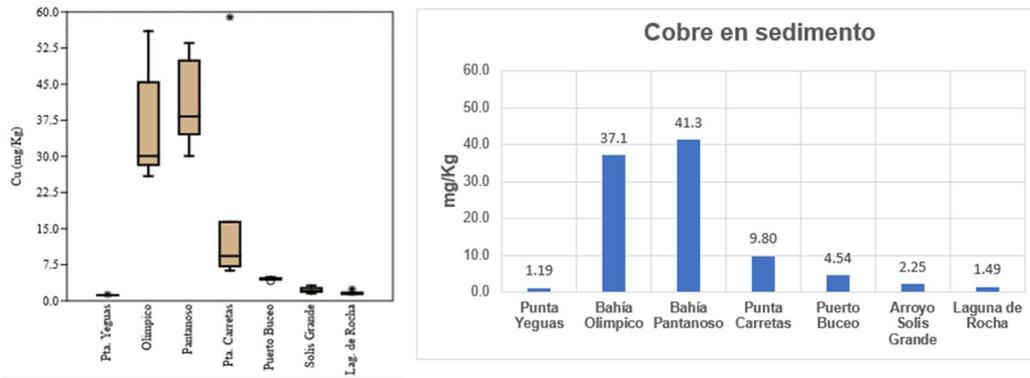
Los análisis de cromo en sedimentos dieron cuantificables para todos los sitios de muestreo. Los mayores valores se obtuvieron en los dos sitios de la bahía de Montevideo, Estadio Olímpico y desembocadura del Arroyo pantanoso, con valores de 32,6 y 29,2 mg/Kg respectivamente. El siguiente punto en concentración fue el de la playa del Puerto del Buceo con 15,3 mg/Kg. El menor valor encontrado fue el correspondiente al sitio de muestreo de Laguna de Rocha con un valor de 3,10 mg/Kg (Figura 44).



Cr	Punta Yeguas	Bahía Olimpico	Bahía Pantanoso	Punta Carretas	Puerto Buceo	Arroyo Solis Grande	Laguna de Rocha
		4.27 4.52 4.33 4.62 5.21	32.4 34.5 (41.5) * 32.3 31.4	32.1 31.1 24.2 32.7 26.0	10.1 6.96 6.46 8.35 9.47	12.9 17.7 15.3 15.7 14.8	5.33 5.38 9.43 8.53 6.06
Promedio	4.59	32.7	29.2	8.27	15.3	6.95	3.10
Desvío estándar	0.37	1.31	3.86	1.56	1.73	1.90	0.58
RSD(%)	8.15	4.02	13.2	18.9	11.3	27.4	18.8

Figura 44. Resultados de análisis de cromo en sedimentos. Resultados marcados entre paréntesis no se incluyen en el cálculo del promedio, desvío estándar y desvío estándar relativo RSD(%). Se incluye además diagrama de Box Plot para test de outliers y gráfica de concentraciones por punto.

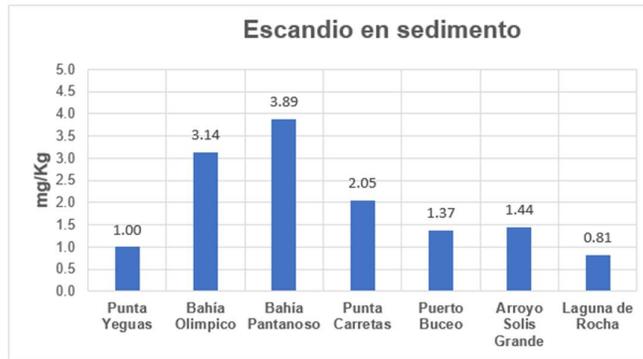
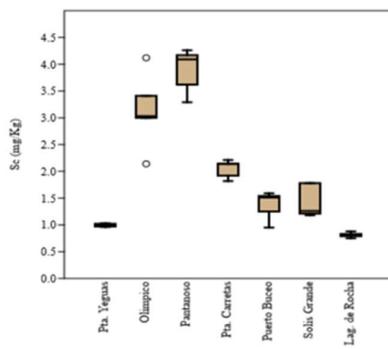
Los análisis de cobre en sedimentos dieron cuantificables para todos los sitios de muestreo. Los mayores valores se obtuvieron en los dos sitios de la bahía de Montevideo, estadio Olímpico y desembocadura del Arroyo Pantanoso, con valores de 37,1 y 41,3 mg/Kg respectivamente. El siguiente punto en concentración fue el de la playa de Punta Carretas con 9,80 mg/Kg. Los sedimentos del sitio de muestreo de playa del Puerto del Buceo dieron un resultado de cobre de 4,54 mg/Kg y en el sitio de muestreo de Arroyo Solís Grande un resultado de 2,25 mg/Kg. El menor valor encontrado fue el correspondiente al sitio de muestreo de la playa de Punta Yeguas con un valor de 1,19 mg/Kg (Figura 45).



Cu	Punta Yeguas	Bahía Olímpico	Bahía Pantanoso	Punta Carretas	Puerto Buceo	Arroyo Solís Grande	Laguna de Rocha
	1.15	30.1	49.9	(58.9)*	4.49	1.92	1.45
	1.18	28.2	38.3	16.4	4.08	1.54	1.69
	1.14	45.4	30.1	7.18	4.46	3.15	1.34
	1.16	25.9	53.5	9.33	4.71	2.65	(2.42)*
	1.34	56.0	34.6	6.29	4.94	1.99	1.47
Promedio	1.19	37.1	41.3	9.80	4.54	2.25	1.49
Desvío estándar	0.083	13.0	10.0	4.58	0.32	0.64	0.15
RSD(%)	6.95	35.1	24.3	46.7	7.05	28.6	9.86

Figura 45. Resultados de análisis de cobre en sedimentos Resultados marcados entre paréntesis no se incluyen en el cálculo del promedio, desvío estándar y y desvío estándar relativo RSD(%). Se incluye además diagrama de Box Plot para test de outliers y gráfica de concentraciones por punto.

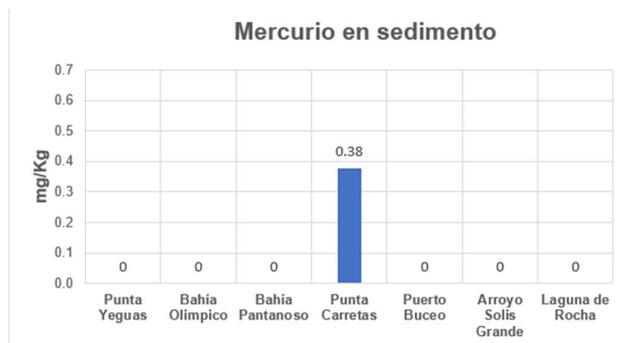
Los análisis de escandio en sedimentos dieron cuantificables para todos los sitios de muestreo. Los mayores valores se obtuvieron en los dos sitios de la bahía de Montevideo, estadio Olímpico y desembocadura del Arroyo pantanoso, con valores de 3,14 y 3,89 mg/Kg respectivamente. El siguiente punto en concentración fue el de la playa de Punta Carretas con 2,05 mg/Kg. Los sedimentos del sitio de muestreo de playa del Puerto del Buceo dieron un resultado de escandio de 1,37 mg/Kg y en el sitio de muestreo de Arroyo Solís Grande un resultado de 1,44 mg/Kg. El menor valor encontrado fue el correspondiente al sitio de muestreo de Laguna de Rocha con un valor de 0,81 mg/Kg (Figura 46) y cercano a ese valor pero un poco por encima están los sedimentos de la playa de Punta Yeguas que dieron un resultado de escandio de 1,00 mg/Kg.



Sc	Punta Yeguas	Bahía Olimpico	Bahía Pantanoso	Punta Carretas	Puerto Buceo	Arroyo Solis Grande	Laguna de Rocha
	0.97	3.41	4.17	2.14	1.59	1.21	0.75
	1.01	2.14	4.26	1.92	0.95	1.18	0.88
	1.03	4.12	3.29	1.82	1.51	1.78	0.79
	0.96	3.00	4.09	2.21	1.54	1.78	0.8
	1.02	3.03	3.62	2.14	1.25	1.26	0.83
Promedio	1.00	3.14	3.89	2.05	1.37	1.44	0.81
Desvío estándar	0.031	0.72	0.41	0.17	0.27	0.31	0.048
RSD(%)	3.12	22.9	10.7	8.16	19.6	21.5	5.98

Figura 46 Resultados de análisis de escandio en sedimentos. Resultados marcados entre paréntesis no se incluyen en el cálculo del promedio, desvío estándar y desvío estándar relativo RSD(%). Se incluye además diagrama de Box Plot para test de outliers y gráfica de concentraciones por punto.

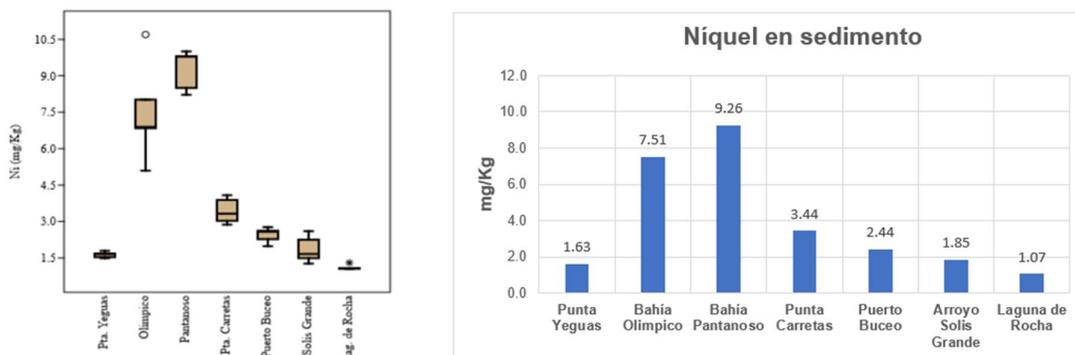
Los análisis de mercurio en sedimentos fueron todos no detectables con la excepción de una sola réplica del sitio del Puerto del Buceo que dio un resultado de 1,89 mg/Kg. Es un valor muy alto, pero al ser una réplica real (no instrumental), y que todo el material del muestreo fue tratado del mismo modo, no se sospecha ningún tipo de contaminación de la muestra en el proceso de colecta y análisis del sedimento. No se realiza test de outlier por ser un solo dato (Figura 47). Se reporta para ese punto el valor de esa réplica dividido por el número de réplicas totales por lo que el valor final es de 0,38 mg/Kg. Ese valor promedio queda comprendido entre el PEL y el TEL por lo que no se puede concluir sobre la probabilidad de efectos tóxicos. Considerando individualmente el valor de mercurio de esa réplica en particular, la concentración 1,89 mg/Kg superaría ampliamente el valor de PEL lo que reflejaría una elevada probabilidad de que ese sedimento tenga efectos tóxicos en la biota.



Hg	Punta Yeguas	Bahía Olímpico	Bahía Pantanoso	Punta Carretas	Puerto Buceo	Arroyo Solís Grande	Laguna de Rocha
	ND	ND	ND	ND	0	ND	ND
ND	ND	ND	ND	ND	1.89	ND	ND
ND	ND	ND	ND	ND	0	ND	ND
ND	ND	ND	ND	ND	0	ND	ND
ND	ND	ND	ND	ND	0	ND	ND
Promedio	ND	ND	ND	ND	0.38	ND	ND
Desvío estándar	-	-	-	-	-	-	-
RSD(%)	-	-	-	-	-	-	-

Figura 47. Resultados de análisis de mercurio en sedimentos. Resultados marcados entre paréntesis no se incluyen en el cálculo del promedio, desvío estándar y desvío estándar relativo RSD(%). Se incluye además gráfica de concentraciones por punto.

Los análisis de níquel en sedimentos dieron cuantificables para todos los sitios de muestreo. Los mayores valores se obtuvieron en los dos sitios de la bahía de Montevideo, estadio Olímpico y desembocadura del Arroyo Pantanoso, con valores de 7,51 y 9,26 mg/Kg respectivamente. El siguiente punto en concentración fue el de la playa de Punta Carretas con 3,44 mg/Kg. Los sedimentos del sitio de muestreo de playa del Puerto del Buceo dieron un resultado de níquel de 2,44 mg/Kg y en el sitio de muestreo de Arroyo Solís Grande un resultado de 1,85 mg/Kg. En el sitio de Punta Yeguas el resultado de níquel en sedimento fue 1,63 del orden de lo encontrado en Arroyo Solís Grande. El menor valor encontrado fue el correspondiente al sitio de muestreo de la Laguna de Rocha con un valor de 1,07 mg/Kg (Figura 48).



Ni	Punta Yeguas	Bahía Olímpico	Bahía Pantanoso	Punta Carretas	Puerto Buceo	Arroyo Solís Grande	Laguna de Rocha
	1.53	8.02	9.80	3.89	2.58	1.49	1.07
	1.66	5.09	10.0	3.32	1.98	1.27	(1.30)*
	1.49	10.7	8.22	3.03	2.62	2.60	1.08
	1.68	6.84	9.79	4.08	2.77	2.25	1.05
	1.79	6.89	8.50	2.87	2.27	1.66	1.06
Promedio	1.63	7.51	9.26	3.44	2.44	1.85	1.07
Desvío estándar	0.12	2.07	0.83	0.53	0.32	0.56	0.013
RSD(%)	7.43	27.6	9.00	15.4	13.0	30.0	1.21

Figura 48. Resultados de análisis de níquel en sedimentos. Resultados marcados entre paréntesis no se incluyen en el cálculo del promedio, desvío estándar y desvío estándar relativo RSD(%). Se incluye además diagrama de Box Plot para test de outliers y gráfica de concentraciones por punto.

Los análisis de plomo en sedimentos dieron cuantificables para todos los sitios de muestreo. Los mayores valores se obtuvieron en los dos sitios de la bahía de Montevideo, estadio Olímpico y desembocadura del Arroyo Pantanoso, con valores de 24,4 y 44,5 mg/Kg respectivamente. El siguiente punto en concentración fue el de la playa del Puerto del Buceo con 11,4 mg/Kg. Los sedimentos de los sitios de muestreo de Arroyo Solís Grande y de la Playa de Punta Carretas dieron una concentración de plomo del mismo orden siendo 3,24 y 3,18 mg/Kg respectivamente. Los sedimentos de la Laguna de Rocha dieron un resultado de plomo de 1,46 mg/Kg. El menor valor encontrado fue el correspondiente al sitio de muestreo de la playa de Punta Yeguas con un valor de 1,27 mg/Kg (Figura 49).

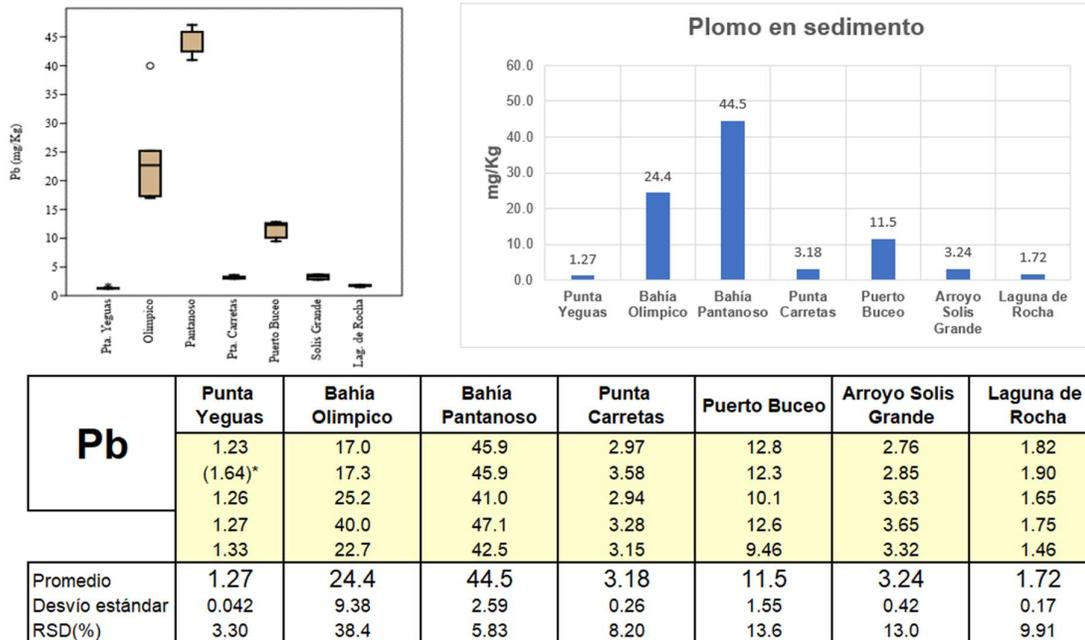
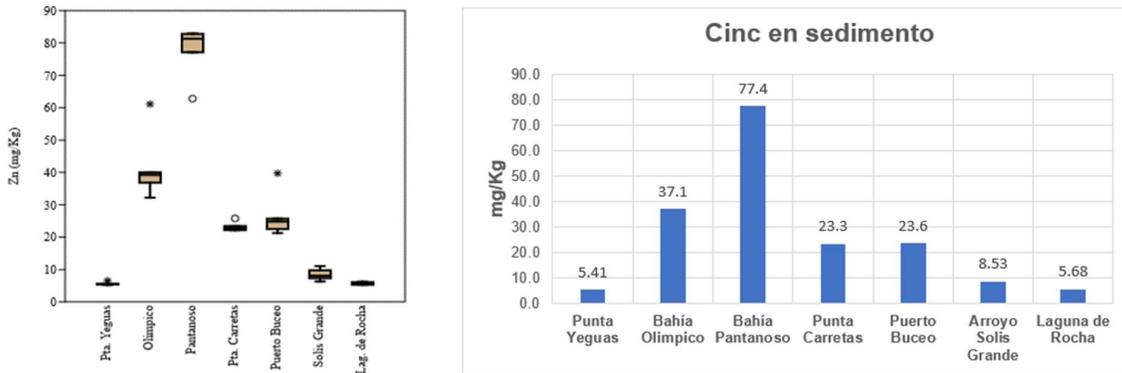


Figura 49. Resultados de análisis de plomo en sedimentos. Resultados marcados entre paréntesis no se incluyen en el cálculo del promedio, desvío estándar y desvío estándar relativo RSD(%). Se incluye además diagrama de Box Plot para test de outliers y gráfica de concentraciones por punto.

Los análisis de cinc en sedimentos dieron cuantificables para todos los sitios de muestreo. Los mayores valores se obtuvieron en los dos sitios de la bahía de Montevideo, estadio Olímpico y desembocadura del Arroyo Pantanoso, con valores de 37,0 y 77,4 mg/Kg respectivamente. Los siguientes puntos con valores muy cercanos entre sí fueron la playa del Punta Carretas y el de la playa del Puerto del Buceo con 23,3 y 23,6 mg/Kg. Los sedimentos del sitio del Arroyo Solís Grande dieron un resultado de cinc de 8,3 mg/Kg. Los menores valores encontrados fueron los correspondientes al sitio de muestreo de Laguna de Rocha con un valor de cinc de 5,68 mg/Kg y de la playa de Punta Yeguas con un valor de 5,41 mg/Kg (Figura 50).



Zn	Punta Yeguas	Bahía Olimpico	Bahía Pantanoso	Punta Carretas	Puerto Buceo	Arroyo Solis Grande	Laguna de Rocha
	5.42	36.8	77.1	23.4	(39.7)*	7.3	5.3
	5.44	32.2	83.0	22.1	24.8	6.3	6.2
	5.22	39.2	62.8	22.8	21.3	11.1	5.6
	5.56	40.0	82.8	25.8	25.7	9.8	6.1
(6.53)*	(61.1)*	81.3	22.2	22.5	8.1	5.3	
Promedio	5.41	37.1	77.4	23.3	23.6	8.53	5.68
Desvío estándar	0.14	3.51	8.50	1.51	2.03	1.95	0.42
RSD(%)	2.61	9.47	11.0	6.50	8.61	22.9	7.37

Figura 50. Resultados de análisis de cinc en sedimentos. Resultados marcados entre paréntesis no se incluyen en el cálculo del promedio, desvío estándar y desvío estándar relativo RSD(%). Se incluye además diagrama de Box Plot para test de outliers y gráfica de concentraciones por punto.

### 5.3- Análisis de metales en *Heleobia australis*.

Se analizaron los metales cadmio, cromo, cobre, escandio, mercurio, níquel, plomo y cinc en los tejidos blandos liofilizados de *Heleobia australis*.

Para el control de calidad de las medidas se analizaron dos materiales de referencia certificado: el NIST 1577c Bovine liver y DOLT5 Dogfish liver National Research Council Canada (Ottawa, Canadá). El material certificado NIST 1577c proviene de tejidos de hígado de novillos liofilizados y cuenta con valores certificados para los metales: cromo, níquel, cobre, cinc, cadmio y plomo. El material certificado DOLT 5 proviene de hígado de pez liofilizado y cuenta con valores certificados para los metales: cobre, cinc, cadmio y plomo y mercurio y valores de referencia para cobre y níquel.

Se calcula la recuperación para cada uno de los metales respecto del nivel que declare el certificado. Se pueden ver los resultados en la Tabla 11. Los resultados fueron satisfactorios para todos los casos con resultados por encima del 90% de recuperación.

Las mayores concentraciones de metal analizadas en el tejido blando de *Heleobia* corresponden al cobre y al cinc, con máximos de 111 y 98,8 mg/Kg respectivamente.

Las menores concentraciones de metal en el tejido blando de *Heleobia* corresponden al cadmio y al mercurio, con máximos de 0,42 y 0,56 mg/Kg respectivamente (Tabla 12).

Tabla 11. Resultados de recuperación en estándares certificados de origen biológico

Resultados de análisis de material biológico certificado (mg/Kg)							
	NIST 1577c	Cr	Ni	Cu	Zn	Cd	Pb
Control calidad Hígado bovino	Valor obtenido	0.055	0.0443	269.3	170.2	0.088	0.0723
	Valor certificado	0.053	0.0445	275.2	181.1	0.097	0.0628
	Recuperación	104%	100%	98%	94%	91%	115%

	DOLT-5	Cr	Ni	Cu	Zn	Cd	Pb	Hg
Control calidad Hígado de pez	Valor obtenido	2.33	1.84	33.9	102.2	13.5	0.16	0.45
	Valor certificado			35	105.3	14.5	0.162	0.44
	Recuperación			97%	97%	93%	97%	102%
	Valor referencia	2.35	1.71					
	Recuperación	99%	108%					

Tabla 12. Resultados de la media, desvío estándar, mínimo y máximo de los metales analizadas en tejidos blandos de *Heleobia australis*.

	Concentración de metales en <i>Heleobia australis</i> (mg/kg)							
	Cd	Cr	Cu	Sc	Hg	Ni	Pb	Zn
Media	0.10	14.3	50.4	1.59	0.11	5.36	7.4	45.8
Desvío estándar	-	15.6	39.2	1.15	-	5.25	8.13	34.4
Mínimo	ND	0.53	6.60	0.10	ND	0.29	0.62	8.36
Máximo	0.42	47.3	111	5.68	0.56	15.4	22..5	98.8
Limite de detección (LOD)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Limite de detección (LOQ)	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10

Las concentraciones de metal en tejidos blandos de *Heleobia australis* ordenadas de la mayor concentración analizada a la más pequeña sigue el siguiente orden: Cu>Zn>Cr>Pb>Ni>Sc>Hg>Cd

## 5.4- Índices de contaminación en sedimentos.

### 5.4.1- Factor de enriquecimiento (FE)

Se calculó para cada metal y para cada sitio, el factor de enriquecimiento (**FE**) para ponderar por el contenido de metales naturalmente presentes en el sedimento y poder clasificar de ese modo, si el origen de la contaminación es antrópico o bien si es de origen natural. El cálculo del FE se realizó de acuerdo con (Szefer *et al.*, 1998).

Los datos del Background se tomaron de Bueno *et al.*, 2016. En la Figura 51 se pueden ver los resultados del FE para cada metal y cada sitio de muestreo y el factor de enriquecimiento global (GEF) para cada sitio.

Factor de Enriquecimiento (FE) usando Sc						
Background tomado de BAT 1 (Bueno <i>et al.</i> , 2016)	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn	Factor de Enriquecimiento Global (GEF)
<b>Pta. Yeguas</b>	1.3	0.4	0.8	2.0	0.6	<b>5.1</b>
<b>Bahía Olimpico</b>	3.0	3.6	1.2	11.5	1.6	<b>20.8</b>
<b>Bahía Pantanoso</b>	2.2	3.2	1.2	16.9	2.3	<b>25.8</b>
<b>Punta Carretas</b>	1.2	1.4	0.8	8.3	1.3	<b>13.1</b>
<b>Puerto Buceo</b>	3.3	1.0	0.9	3.4	2.0	<b>10.6</b>
<b>Solis Grande</b>	1.4	0.5	0.6	3.3	0.7	<b>6.5</b>
<b>Laguna de Rocha</b>	1.1	0.6	0.7	3.1	0.8	<b>6.3</b>

Figura 51. Factor de enriquecimiento (FE) calculado respecto del background de los resultados del testigo BAT-1 de Bueno *et al.*, 2016.

Los resultados del FE calculados muestran enriquecimiento moderado de cromo en sedimento en los sitios de muestreo de la Bahía de Montevideo Estadio Olímpico y desembocadura del Arroyo Pantanoso y en la playa del Puerto del Buceo. Para el cobre en sedimento solo se encontró un enriquecimiento moderado en los dos puntos de la Bahía de Montevideo (Estadio Olímpico y Pantanoso). Los resultados de plomo en sedimento muestran un enriquecimiento moderado para los sitios de muestreo de Punta Yeguas, Puerto del Buceo, Arroyo Solís Grande y Laguna de Rocha. Para los dos puntos de la Bahía de Montevideo (Estadio Olímpico y Pantanoso) y para el punto de Punta Carretas el enriquecimiento de plomo es significativo. Lo mayores valores de enriquecimiento de plomo en sedimento hallados son en los puntos de Bahía de Montevideo, siendo

máximo en la desembocadura del Arroyo Pantanoso. Los resultados del factor de enriquecimiento para el cinc muestran un enriquecimiento moderado en la desembocadura del Arroyo Pantanoso en Bahía de Montevideo y en la playa del Puerto del Buceo. Los factores de enriquecimiento de níquel son mínimos o nulos para todos los sitios de muestreo analizados. Los factores de enriquecimiento para todos los metales son nulos o mínimos para los sitios de Punta Yeguas, Arroyo Solís Grande y Laguna de Rocha con excepción del plomo que marca un enriquecimiento moderado.

Se calcularon los factores de enriquecimiento relativo (**FER**) tomando como *background* los valores de cada metal correspondientes al sitio de Laguna de Rocha donde se obtuvieron las concentraciones de metal más bajas, a efectos de comparar posibles variaciones en los resultados dependiendo de la elección de los valores base de los metales (Chen *et al*, 2022). En la Figura 52 se pueden ver los resultados del FER para cada metal y cada sitio de muestreo y el factor de enriquecimiento global (**GEF**) para cada sitio.

<b>Factor de Enriquecimiento relativo (FER) usando Sc</b>						
Background tomado de sitio Laguna de Rocha	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn	Factor de Enriquecimiento Global (GEF)
<b>Pta. Yeguas</b>	1.2	0.7	1.2	0.6	0.8	<b>4.5</b>
<b>Bahía Olimpico</b>	2.7	6.4	1.8	3.7	1.9	<b>16.5</b>
<b>Bahía Pantanoso</b>	2.0	5.8	1.8	5.4	2.8	<b>17.8</b>
<b>Punta Carretas</b>	1.1	2.6	1.3	2.6	1.6	<b>9.2</b>
<b>Puerto Buceo</b>	2.9	1.8	1.3	1.1	2.5	<b>9.6</b>
<b>Solis Grande</b>	1.3	0.8	1.0	1.1	0.8	<b>5.0</b>

Figura 52. Factor de enriquecimiento relativo (FER) calculado respecto del background de los sedimentos de Laguna de Rocha.

Los factores de enriquecimiento relativo (FER) calculados a través del background tomado de la media de los sedimentos de Laguna de Rocha se comportan igual que los FE para el cromo, siendo moderados para los puntos de Bahía de Montevideo y de la playa del Puerto del Buceo. Lo mismo sucede para el cinc donde los FER muestran un enriquecimiento moderado para la desembocadura del Arroyo Pantanoso y para la playa del Puerto del Buceo como en el caso de los FE calculados. Para el plomo los enriquecimientos relativos fueron menores que lo FE, siendo moderados para el punto Estadio Olímpico de la Bahía de Montevideo y Punta Carretas en vez de significativos como fueron para el caso de los FE. Para el punto de muestreo de la desembocadura del Arroyo Pantanoso el factor de enriquecimiento relativo de plomo sigue siendo significativo, aunque sea menor en su resultado que el FE para plomo calculado previamente. En los puntos de muestro de Punta Yeguas, playa del Puerto del Buceo y Arroyo Solís Grande los FER para plomo son nulos o mínimos, a diferencia de los FE para plomo que resultaron moderados para estos mismos sitios. Para el caso del cobre, los factores de enriquecimiento relativos fueron mayores que los FE para esos mismos sitios. Los FER de cobre dieron resultados significativos para los dos sitios de muestreo de Bahía de Montevideo (Estadio Olímpico y Pantanoso) y moderados para los sedimentos del sitio de muestreo de playa de Punta carretas. Para los sitios de muestreo de Punta Yeguas y el Arroyo Solís Grande, los factores de enriquecimiento relativo son mínimos o nulos para todos los metales lo que sugiere una mínima contaminación de los sedimentos por metales en esos sitios.

Los factores de enriquecimiento global (GEF) calculados a partir de los FE y de los FER marcan la misma tendencia: los dos puntos de la Bahía son lo de mayor enriquecimiento de metales siendo el mayor el punto del Pantanoso. Luego le siguen los dos puntos de Punta Carretas y Puerto del Buceo con valores muy similares y los puntos de Punta Yeguas, Solís Grande y Laguna de Rocha son los más bajos (ver Figura 53). En la Figura 53 no hay dato para el GEF de Laguna de Rocha calculado a partir de los FER debido a que los cálculos se realizan respecto al *background* de ese mismo sitio.

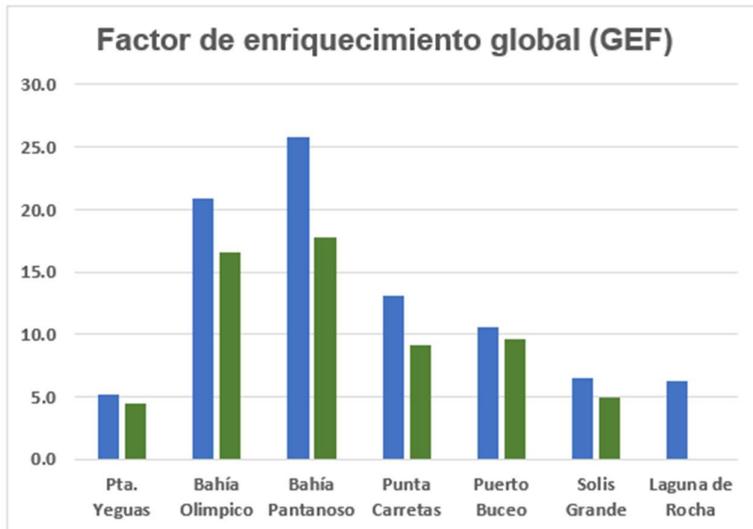


Figura 53. Factores de enriquecimiento global (GEF). En azul se muestran los GEF calculados a partir de los factores de enriquecimiento y en verde los calculados a partir de los factores de enriquecimiento relativo.

#### 5.4.2- Índice de carga contaminante (PLI) y grado de contaminación modificado (mCd)

Se calcularon los índices de carga contaminante PLI (Pollution Load Index) (Tomlinson et al., 1980) y el grado de contaminación modificado (mCd) propuesto por (Abraham & Parker, 2008). Para los cálculos se utilizaron los resultados de background del testigo BAT-1 de Bueno et al., 2016 (Figura 54).

Se propuso una clasificación para el PLI donde valores mayores de 1 son contaminados y los < 1 son no contaminados (Suresh *et al.*, 2012). De acuerdo con esa clasificación se clasificarían los dos puntos de la Bahía de Montevideo (Estadio Olímpico y Pantanoso) como contaminados. Los siguientes valores más próximos, aunque no significativos) son los de las playas de Punta Carretas y del Puerto del Buceo.

	PLI	mCd
Pta. Yeguas	0.12	0.14
Bahía Olímpico	<b>1.08</b>	1.58
Bahía Pantanoso	<b>1.41</b>	2.41
Punta Carretas	0.46	0.68
Puerto Buceo	0.31	0.37
Solis Grande	0.20	0.25
Laguna de Rocha	0.11	0.14

mCd	Clasificación (Abraham & Parker, 2008)
<b>mCd &lt; 1,5</b>	Nulo o muy bajo grado de contaminación
<b>1,5 ≤ mCd &lt; 2</b>	Bajo grado de contaminación
<b>2 ≤ mCd &lt; 4</b>	Grado medio de contaminación
<b>4 ≤ mCd &lt; 8</b>	Alto grado de contaminación
<b>8 ≤ mCd &lt; 16</b>	Muy alto grado de contaminación
<b>16 ≤ mCd &lt; 32</b>	Grado extremadamente alto de contaminación
<b>mCd &gt; 32</b>	Grado Ultra alto de contaminación

Figura 54. Resultados de los índices PLI (índice de carga contaminante) y mCd (grado de contaminación modificado). En el PLI se resalta en negrita los sitios de contaminación significativa (>1).

Se realizó la prueba de calcular los PLI y *mCd* tomando los valores de los metales del sedimento de la Laguna de Rocha. Los resultados siguen mostrando la misma tendencia de mayor contaminación en los puntos de la Bahía de Montevideo seguidos por las playas de Punta Carretas y Puerto del Buceo (Figura 55). El índice de carga contaminante PLI evaluado de acuerdo con Suresh *et al.*, 2012 daría que todos los sedimentos de los sitios están contaminados por metales, respecto del sitio de referencia de Laguna de Rocha.

	PLI	mCd
Pta. Yeguas	<b>1.10</b>	1.14
Bahía Olímpico	<b>9.53</b>	11.32
Bahía Pantanoso	<b>12.5</b>	15.0
Punta Carretas	<b>4.06</b>	4.40
Puerto Buceo	<b>2.76</b>	2.98
Solis Grande	<b>1.76</b>	1.77

mCd	Clasificación (Abraham & Parker, 2008)
<b>mCd &lt; 1,5</b>	Nulo o muy bajo grado de contaminación
<b>1,5 ≤ mCd &lt; 2</b>	Bajo grado de contaminación
<b>2 ≤ mCd &lt; 4</b>	Grado medio de contaminación
<b>4 ≤ mCd &lt; 8</b>	Alto grado de contaminación
<b>8 ≤ mCd &lt; 16</b>	Muy alto grado de contaminación
<b>16 ≤ mCd &lt; 32</b>	Grado extremadamente alto de contaminación
<b>mCd &gt; 32</b>	Grado Ultra alto de contaminación

Figura 55. Resultados de los índices PLI (índice de carga contaminante) y mCd (grado de contaminación modificado) utilizando el punto de laguna de Rocha como sedimento de background.

El grado de contaminación modificado (*mCd*) calculado con el *background* de los sedimentos de Laguna de Rocha dan como resultado un muy alto grado de contaminación para los dos puntos de Bahía de Montevideo (Estadio Olímpico y Pantanoso). La playa de Punta Carretas quedaría clasificada dentro de contaminación alta y la playa del Puerto del Buceo como contaminación moderada. El Arroyo Solís quedaría clasificado como de baja contaminación y la playa de Punta Yeguas como de muy bajo grado de contaminación.

### 5.4.3- Comparación con valores SQGs

Se compararon los resultados de todos los metales analizados en cada sitio, con los valores de las guías de calidad de sedimentos de agua dulce (SQGs) TEL, PEL, ERL y ERM listados en MacDonald *et al.*, 2000 y con guías de calidad de sedimento marino de la Oficina Nacional de Administración Oceánica y Atmosférica de los Estados Unidos (NOAA) (Buchman, 2008). (Figura 56).

Valores SQGs para metales (Mac Donald <i>et al.</i> , 2000)				
SEDIMENTOS AGUA DULCE				
	TEL	ERL	PEL	ERM
Cd	0,60	5,00	3,53	9,00
Cr	37,3	80,0	90,0	145
Cu	35,7	70,0	197	390
Hg	0,17	0,15	0,49	1,30
Ni	18,0	30,0	36,0	50,0
Pb	35,0	35,0	91,3	110
Zn	123	120	315	270

	Concentración de metales en sedimento (mg/Kg)					
	Cr	Cu	Hg	Ni	Pb	Zn
Pta. Yeguas	4.59	1.19	ND	1.63	1.35	5.63
Bahía Olimpico	32.7	37.1	ND	7.51	24.4	41.9
Bahía Pantanoso	29.2	41.3	ND	9.26	44.5	77.4
Punta Carretas	8.27	9.80	ND	3.44	11.5	26.8
Puerto Buceo	15.3	4.54	0,38	2.44	3.2	23.3
Solis Grande	6.95	2.25	ND	1.85	3.24	8.53
Laguna de Rocha	3.10	1.49	ND	1.07	1.72	5.68

Valores SQGs para metales (Buchman, 2008)				
SEDIMENTOS MARINOS				
	TEL	ERL	PEL	ERM
Cd	0,68	1,20	4,21	9,60
Cr	52,3	81,0	160	370
Cu	18,7	34,0	108	270
Hg	0,13	0,15	0,70	0,71
Ni	15,9	20,9	42,8	51,6
Pb	30,2	46,7	112	218
Zn	124	150	271	410

	Concentración de metales en sedimento (mg/Kg)					
	Cr	Cu	Hg	Ni	Pb	Zn
Pta. Yeguas	4.59	1.19	ND	1.63	1.35	5.63
Bahía Olimpico	32.7	37.1	ND	7.51	24.4	41.9
Bahía Pantanoso	29.2	41.3	ND	9.26	44.5	77.4
Punta Carretas	8.27	9.80	ND	3.44	11.5	26.8
Puerto Buceo	15.3	4.54	0,38	2.44	3.2	23.3
Solis Grande	6.95	2.25	ND	1.85	3.24	8.53
Laguna de Rocha	3.10	1.49	ND	1.07	1.72	5.68

Figura 56. Comparación de resultados de metales en sedimentos con valores de las guías de calidad de sedimentos (SQGs) para sedimentos de agua dulce y marinos. Resaltados en amarillo se marcan los valores por encima del TEL. Se resaltan en naranja valores por encima del ERL.

El valor de cobre en los dos puntos de la Bahía de Montevideo (Estadio Olímpico y desembocadura Arroyo Pantanoso) superan los valores del nivel umbral de efectos tóxicos (TEL) para sedimentos de agua dulce y se superan los valores de efecto de rango bajo (ERL) para sedimentos marinos. En la desembocadura del Arroyo Pantanoso se superan los valores para sedimentos de agua dulce de TEL y los niveles de efectos de rango bajo (ERL) para el plomo. En el caso de sedimentos marinos solo se superaría el TEL para el plomo en la desembocadura del Arroyo Pantanoso. En el caso del mercurio en Puerto de Buceo también se superan el TEL y el ERL para ambos tipos de sedimento. Este resultado de mercurio es más incierto debido a que es una sola de las réplicas que individualmente dio cuantificable y en niveles que comparando

esa réplica en sí, superarían incluso el ERM. No se pueden atribuir contaminaciones durante el ensayo como para descartar el dato, pero es un resultado cuestionable.

## 5.5- Índices de toxicidad en *Heleobia australis*.

### 5.5.1- Factor de acumulación biota-sedimento (BSAF).

A efectos de evaluar la capacidad potencial de un organismo acuático para acumular metales pesados desde el sedimento, se utilizó el factor de acumulación biota-sedimento (**BSAF**). Con los datos de metales en sedimentos, y los datos de contenido de metales en los tejidos blandos de *Heleobia australis* se calcularon los factores de acumulación biota-sedimento (BSAF). Los resultados se muestran en la Figura 57.

Para todos los sitios de muestreo la *Heleobia australis* se comportó como macroconcentradora de cobre. Para el cinc los datos del BSAF oscilaron entre la clase de microconcentradores y macroconcentradores siendo el promedio entre los sitios >2 por lo que se puede afirmar que la *Heleobia* es macroconcentradora de cinc para los sitios muestreados. En los casos del cromo y del níquel los resultados son muy dispares, pero promedian resultados mayores a 1 por lo que se puede catalogar a la *Heleobia australis* como microconcentradora para el cromo y el Níquel. Analizando los datos de escandio, se ve que la *Heleobia australis* es desconcentradora para este metal ya que en cinco de los siete puntos el BSAF da menor de 1 y el promedio también es menor de 1.

	BSAF					
	Cr	Cu	Sc	Ni	Pb	Zn
Pta. Yeguas	0.67	5.53	0.64	1.15	1.41	1.79
Bahía Olimpico	1.45	2.34	1.80	2.05	0.92	2.36
Bahía Pantanoso	0.51	2.69	0.30	0.96	0.13	1.06
Punta Carretas	1.14	6.86	1.08	1.53	1.27	1.91
Puerto Buceo	0.60	9.58	0.51	0.77	1.36	1.28
Solis Grande	2.26	6.71	0.51	2.08	0.61	4.78
Laguna de Rocha	0.17	15.37	0.12	0.27	0.36	1.47
<b>Promedio</b>	1.10	5.62	0.81	1.43	0.95	2.20

(Berandah *et al.*, 2010; Usero, J. et al., 2005)

BSAF > 2	MACROCONCENTRADORES
1 < BSAF < 2	MICROCONCENTRADORES
BSAF < 1	DESCONCENTRADORES

Figura 57. Factor de acumulación biota sedimento (BSAF) de metales para *Heleobia australis*.

El resultado del BSAF para el plomo muestra resultados dispares entre las clases de microconcentrador y desconcentrador. El promedio de los siete sitios da 0,95 por lo que se catalogaría la *Heleobia australis* como desconcentradora de plomo aunque está muy próximo el valor a la categoría de microconcentradora. Se da la particularidad que el menor valor de BSAF para el plomo se encontró en el punto de la Bahía de Montevideo, desembocadura del Arroyo Pantanoso siendo este punto el de mayor concentración de plomo en los sedimentos de los sitios analizados.

### 5.5.2- Índice de contaminación metálica (MPI).

El mayor valor del Índice de contaminación metálica (MPI) se encontró en el punto de la Bahía de Montevideo Estadio Olímpico. Le siguen en orden, la desembocadura del Arroyo Pantanoso y la playa de Punta Carretas con valores intermedios de PLI. Los sitios del Puerto de Buceo y Arroyo Solís Grande le siguen con valores bajos de PLI.

El menor índice de contaminación metálica en *Heleobia australis* se encontró en la Laguna de Rocha lo que indica que los organismos son los menos impactados con respecto a los contaminantes metálicos. Los resultados de los MPI para cada sitio de muestreo se muestran en la Figura 58.

Índice de contaminación metálica (MPI)										
MPI = $(Cf_1 \times Cf_2 \dots Cf_n)^{1/n}$ Usero et al, 1997										
	Concentración de metales en <i>Heleobia australis</i> (mg/kg)								MPI	MPI
	Cd	Cr	Cu	Sc	Hg	Ni	Pb	Zn		
Pta. Yeguas	0.10	3.08	6.60	0.64	0.10	1.88	1.90	10.1	1.21	2.79
Bahía Olímpico	0.17	47.3	86.7	5.68	0.56	15.4	22.5	98.8	9.66	30.5
Bahía Pantanoso	0.10	15.0	111	1.17	0.10	8.91	5.91	81.7	4.12	14.3
Punta Carretas	0.11	9.44	67.2	2.22	0.10	5.28	14.6	51.1	3.96	13.3
Puerto Buceo	0.10	9.11	43.5	0.70	0.10	1.88	4.34	29.9	2.26	6.38
Solis Grande	0.42	15.7	15.1	0.62	0.19	3.85	1.99	40.8	2.79	5.98
Laguna de Rocha	0.1	0.5	22.9	0.1	0.1	0.3	0.6	8.4	0.61	1.11
									Todos los metales. Tomando valores no detectables	Sin Mercurio ni cadmio

Figura 58. Índice de contaminación metálica (MPI) para metales en *Heleobia australis*. La columna resaltada en verde no incluye el Cd y Hg en su cálculo.

Se incluyen dos columnas de MPI diferentes dependiendo si se usan las concentraciones de todos los metales o si se usan todos los metales menos cadmio y mercurio. Se grafican ambas posibilidades para cada sitio (Figura 59). Resulta más claro para evaluar tendencias el cálculo de MPI sin el cadmio y el mercurio que son resultados no detectables a los cuales se les asignó el valor del límite de cuantificación a efectos del cálculo.

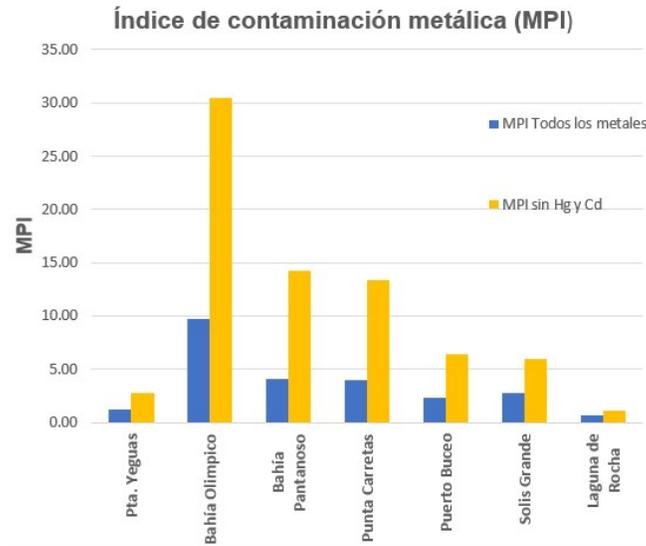


Figura 59. Índices de contaminación metálica para *Heleobia australis*

### 5.5.3- Índice de carga contaminante en *Heleobia* (PLI<sub>Hel.</sub>).

El índice de carga contaminante (PLI<sub>Hel.</sub>) propuesto por (Tomlinson *et al.*, 1980) fue calculado utilizando como niveles de *background*, los valores obtenidos para *Heleobia australis* en el sitio de Laguna de Rocha. Se seleccionó este punto porque el resultado de MPI fue mucho menor que el resto de los sitios. Los resultados se muestran en la Tabla 13.

Tabla 13. Índice de carga contaminante ( $PLI_{Hel.}$ ) de metales, en *Heleobia australis*. Los valores de CF corresponden al factor de concentración de metales respecto de la concentración del *background* de Laguna de Rocha resaltada en verde.

Índice de carga contaminante de metales en <i>Heleobia australis</i> ( $PLI_{Hel.}$ )													
	Cr	Cu	Sc	Ni	Pb	Zn	CF1	CF2	CF3	CF4	CF5	CF6	PLI
Pta. Yeguas	3.08	6.60	0.64	1.88	1.90	10.1	5.81	0.29	6.40	6.48	3.06	1.21	2.52
Bahía Olímpico	47.3	86.7	5.68	15.4	22.5	98.8	89.25	3.79	56.80	53.10	36.29	11.82	27.5
Bahía Pantanoso	15.0	111	1.17	8.91	5.91	81.7	28.30	4.85	11.70	30.72	9.53	9.77	12.9
Punta Carretas	9.44	67.2	2.22	5.28	14.6	51.1	17.81	2.93	22.20	18.21	23.55	6.11	12.0
Puerto Buceo	9.11	43.5	0.70	1.88	4.34	29.9	17.19	1.90	7.00	6.48	7.00	3.58	5.78
Solís Grande	15.7	15.1	0.62	3.85	1.99	40.8	29.62	0.66	6.20	13.28	3.21	4.88	5.41
Laguna de Rocha	0.53	22.9	0.1	0.29	0.62	8.36							

El mayor valor del Índice de carga contaminante se encontró en el punto de la Bahía de Montevideo Estadio Olímpico. Le siguen en orden, la desembocadura del Arroyo Pantanoso y la playa de Punta Carretas con valores intermedios de PLI. Los sitios del Puerto de Buceo y Arroyo Solís Grande le siguen con valores bajos de PLI.

El menor índice de contaminación metálica en *Heleobia australis* se encontró en la playa de Punta Yeguas lo que indica que los organismos son los menos impactados con respecto a los contaminantes metálicos exceptuando el punto de Laguna de Rocha utilizado como punto de referencia para el cálculo.

## 5.6- Análisis estadísticos.

### 5.6.1- Análisis de correlación lineal de Spearman.

Se construyó una matriz ambiental que incluye datos fisicoquímicos de aguas y sedimento, fracciones granulométricas del sedimento, metales en sedimento y metales en tejidos blandos de *Heleobia australis* para cada sitio de muestreo. Se realizó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk en el software PAST v4.03 (Hammer *et al.*, 2001) dando como resultado un p de  $6,76 \times 10^{-33}$  por lo que se concluye que los datos de la matriz no están normalmente distribuidos ( $p < 0,05$ ). Para evaluar la correlación de variables se calcula la matriz de correlación lineal de Spearman que, al ser una prueba no paramétrica, no requiere distribución normal de los datos. Se utiliza el software PAST v4.03 para calcular la correlación de Spearman. Se elige el modo de representación gráfica de las correlaciones por medio de elipses enmarcadas en

rectángulos en el caso de que la correlación sea significativa, y que toma colores azules si la correlación es positiva o rojas cuando son negativas, para poder analizar primariamente los datos. En esta primera matriz de correlación general se analizan las correlaciones significativas como  $p < 0,05$ .

Se observa una correlación significativa ( $p < 0,01$ ) entre la salinidad y el sulfato en agua ( $r = 0,991$ ) y entre la salinidad y la proporción de arena fina ( $r = 0,955$ ). La salinidad también tiene correlación significativa ( $p < 0,05$ ) con la proporción de arena gruesa aunque la relación es inversa ( $r = -0,811$ ).

Se observa una correlación significativa ( $p < 0,01$ ) entre el fosfato en agua y el fósforo total en agua ( $r = 0,9820$ ) y entre el fosfato en agua y el fósforo total en sedimento ( $p < 0,05$ ) ( $r = 0,8365$ ). A su vez el fósforo total en sedimento se correlaciona positivamente con varios metales en sedimento (cromo, cobre, níquel y cinc) y con el contenido de metales en tejidos blandos de *Helobia australis* para los metales cobre, escandio, níquel, plomo y cinc

Los nutrientes en agua nitrato y nitrógeno total, se correlacionan positivamente con la mayor parte de los metales en sedimentos. En el caso del nitrato las correlaciones con metales en sedimento (cromo, cobre escandio, níquel y cinc) son positivas y todas con un  $p < 0,01$ . En el caso del nitrógeno total, se dan correlaciones positivas con los mismos metales en sedimento que en el caso del nitrato, sumando la correlación con el plomo. En todos los casos las correlaciones también son positivas y con un  $p < 0,05$ . El nitrato en agua también se correlaciona positivamente y con un  $p < 0,05$  con los siguientes metales en tejidos blandos de *Helobia australis* en sedimento: cobre, escandio, níquel, plomo y cinc. El nitrógeno total en agua solo se correlaciona positivamente con un  $p < 0,01$  con el contenido de cobre en *Helobia australis*. Los nutrientes se correlacionan positivamente entre sí y se correlacionan negativamente con el oxígeno disuelto. Los nutrientes también se correlacionan positivamente con el sulfuro en sedimento lo que indicaría un origen común al igual que los metales.

La fracción de arena muy fina se correlaciona significativamente ( $p < 0,05$ ) y de manera positiva con los sólidos suspendidos totales ( $r = 0,8571$ ) y la turbiedad ( $r = 0,9286$ ) en agua y de manera negativa con el pH ( $r = -0,8571$ ). La fracción de arena fina se correlaciona significativamente y de manera positiva con el fosfato y fósforo total en agua y con la salinidad y el sulfato en agua siendo en estos dos últimos casos correlaciones con un  $p < 0,01$  y  $r$  altos ( $0,955$  y  $0,964$  respectivamente). La fracción de

arena fina también se correlaciona negativamente con la arena gruesa y con el oxígeno disuelto en agua. La arena gruesa por su parte se correlaciona negativamente con la salinidad y el contenido de sulfato en agua ( $p < 0,05$  y  $r = -0,811$  y  $-0,857$  respectivamente)

Para visualizar mejor todas esas correlaciones de variables ambientales con el resto de los parámetros, y en particular con la concentración de metales en *Helobia australis* se construyó otra matriz de correlación con menor cantidad de datos. Se muestran los resultados en la Figura 60.

La concentración de cromo, cobre, escandio, níquel y cinc en sedimentos se correlaciona positivamente con un  $p < 0,05$  con el fósforo total y con el nitrógeno total en sedimentos. En el caso del plomo y el escandio la correlación positiva es solo con el nitrógeno total y no con el fósforo total en sedimento. El nitrato en agua guarda correlaciones positivas con todos los metales en sedimento exceptuando el cadmio y mercurio al igual que el nitrógeno total que guarda correlaciones positivas con esos mismos metales menos con escandio. El contenido de cromo en sedimento se correlaciona positivamente con el contenido de sulfuro en sedimento lo que podría indicar un origen común de dichos contaminantes en esa matriz

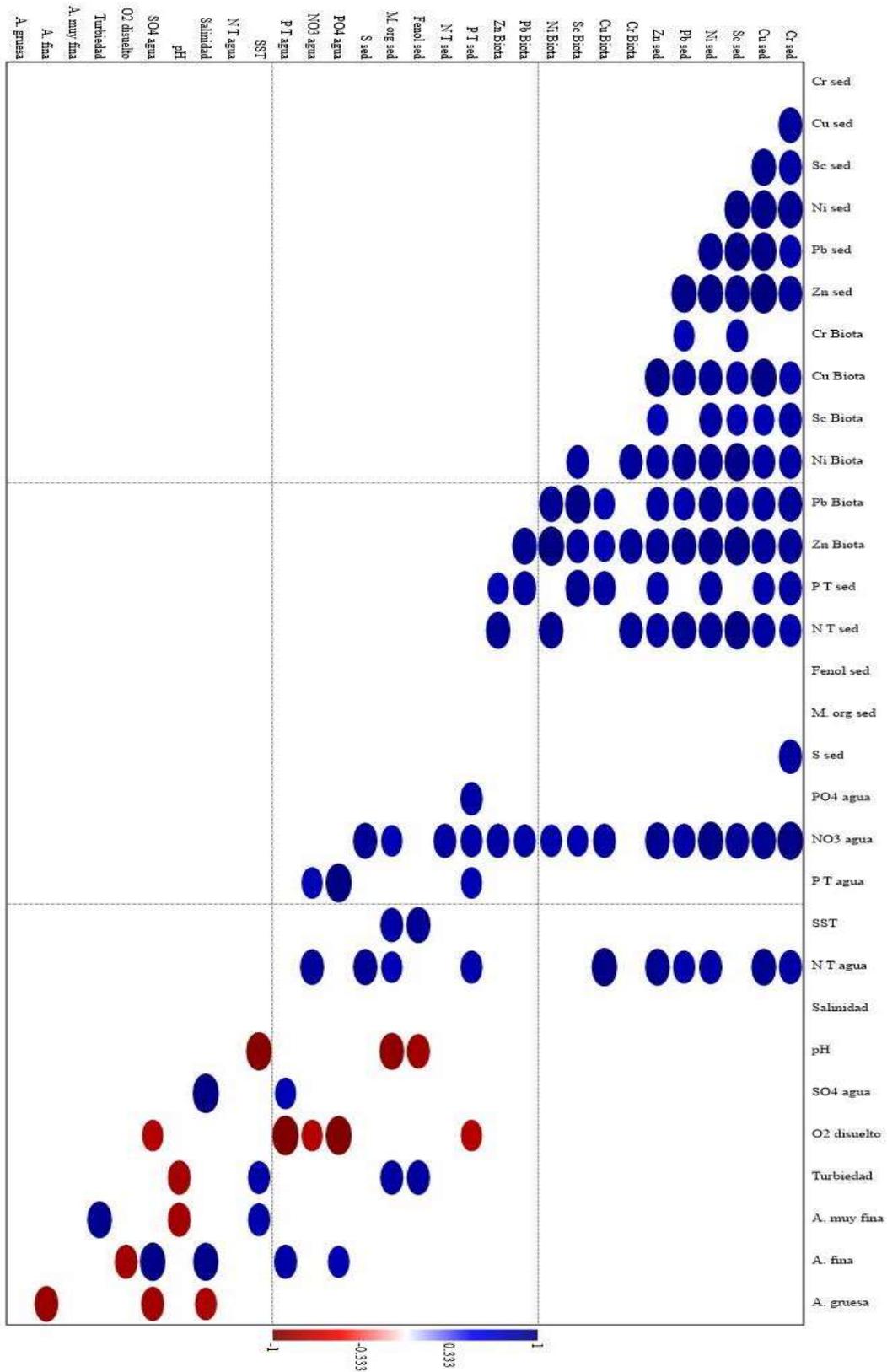


Figura 60. Análisis de correlación lineal de Spearman para la matriz ambiental reducida. Las elipses marcan una correlación  $p < 0,05$  entre variables. Las correlaciones positivas están marcadas en azul y las negativas en rojo, ambas siguiendo gradiente de intensidad.

Se analizaron las distintas correlaciones entre el contenido de los distintos metales en los tejidos blandos de *Heleobia australis* con el resto de los parámetros ambientales. Se muestra en la Tabla 14. Los resultados de estas correlaciones significativas para cada metal.

Tabla 14. Resumen de correlaciones lineales significativas de la concentraciones de cada metal en *Heleobia australis*, con el resto de las variables ambientales. SED se refiere al sedimento y HEL a la matriz *Heleobia*.

	Correlación	significancia	r		Correlación	significancia	r
<b>Cromo</b> <i>Heleobia</i>	Níquel (HEL)	<0,05	0,883	<b>Níquel</b> <i>Heleobia</i>	Cromo (HEL)	<0,05	0,883
	Cinc (HEL)	<0,01	0,893		Escandio (HEL)	<0,05	0,847
	Escandio (HEL)	<0,05	0,607		Plomo (HEL)	<0,01	0,901
	Plomo (HEL)	<0,05	0,750		Cinc (HEL)	<0,01	0,991
	Escandio (SED)	<0,05	0,821		Cromo (SED)	<0,05	0,847
	Plomo (SED)	<0,05	0,786		Cobre (SED)	<0,05	0,847
	Nitrógeno total (SED)	<0,01	0,893		Escandio (SED)	<0,01	0,955
<b>Cobre</b> <i>Heleobia</i>	Plomo (HEL)	<0,05	0,786	<b>Plomo</b> <i>Heleobia</i>	Cobre (HEL)	<0,05	0,786
	Cinc (HEL)	<0,05	0,786		Escandio (HEL)	<0,01	0,964
	Cromo (SED)	<0,05	0,821		Níquel (HEL)	<0,01	0,901
	Cobre (SED)	<0,01	0,964		Cinc (HEL)	<0,05	0,929
	Escandio (SED)	<0,05	0,821		Cromo (SED)	<0,01	0,893
	Níquel (SED)	<0,01	0,893		Cobre (SED)	<0,05	0,857
	Plomo (SED)	<0,01	0,893		Escandio (SED)	<0,05	0,857
	Cinc (SED)	<0,01	0,964	Níquel (SED)	<0,01	0,893	
	Fósforo Total (SED)	<0,01	0,857	Plomo (SED)	<0,05	0,821	
	Nitrato (Agua)	<0,05	0,857	Cinc (SED)	<0,05	0,857	
Nitrógeno Total (Agua)	<0,01	0,964	Fósforo Total (SED)	<0,01	0,857		
<b>Escandio</b> <i>Heleobia</i>	Níquel (HEL)	<0,05	0,847	Nitrato (Agua)	<0,05	0,821	
	Plomo (HEL)	<0,01	0,964	<b>Cinc</b> <i>Heleobia</i>	Cromo (HEL)	<0,01	0,893
	Cinc (HEL)	<0,05	0,857		Cobre (HEL)	<0,05	0,786
	Cromo (SED)	<0,05	0,857		Escandio (HEL)	<0,05	0,857
	Cobre (SED)	<0,05	0,785		Níquel (HEL)	<0,01	0,991
	Escandio (SED)	<0,05	0,785		Plomo (HEL)	<0,01	0,929
	Níquel (SED)	<0,05	0,857		Cromo (SED)	<0,01	0,893
	Cinc (SED)	<0,05	0,786		Cobre (SED)	<0,01	0,893
Fósforo Total (SED)	<0,01	0,929	Escandio (SED)	<0,01	0,964		
Nitrato (Agua)	<0,05	0,786	Níquel (SED)	<0,01	0,929		
			Plomo (SED)	<0,01	0,929		
			Cinc (SED)	<0,01	0,893		
			Fósforo Total (SED)	<0,05	0,786		
			Nitrógeno total (SED)	<0,01	0,929		
			Nitrato (Agua)	<0,05	0,857		

Se puede observar que los metales que correlacionan sus concentraciones en *Heleobia australis* con las concentraciones del mismo metal en sedimento son el cobre, escandio, níquel plomo y cinc. El mercurio y el cadmio no tienen correlaciones con ninguna variable ambiental probablemente por los pocos datos cuantificables. En el caso del cromo la correlación entre su concentración en sedimento y en *Heleobia* no es significativa, aunque tiene un valor cercano de  $p = 0,066$ . El contenido de cinc y plomo en *Heleobia* correlacionan positivamente con el resto de los metales en esa

misma matriz. El contenido de metales en *Heleobia* correlaciona positivamente con el contenido de nitrato en agua salvo en el caso de cromo.

### **5.6.2- Análisis de componentes principales.**

Se realizó un análisis de componentes principales (ACP) utilizando la matriz ambiental reducida (la misma utilizada en el análisis de correlación de Spearman). Los datos fueron transformados restándoles a cada dato la media y dividiendo por el desvío estándar de los datos correspondientes a cada variable. El resultado del ACP logró agrupar los sitios de muestreo en tres grupos: en el grupo 1 los sitios de Punta Yeguas, Laguna de Rocha y Arroyo Solís, en el grupo 2 los dos puntos de la Bahía de Montevideo (desembocadura del Arroyo Pantanoso y Estadio Olímpico) y en el grupo 3 las playas de Punta Carretas y del Puerto del Buceo (Figura 61). Los componentes principales PC1 y PC2 logran explicar un 80,2 % de la varianza (PC1 un 68,0% y PC2 un 12,2%) por lo que son representativos de la mayor parte de los datos.

Se analizaron las cargas de correlación que miden el grado en el cual las variables originales se correlacionan con el nuevo componente principal calculado, es decir la correlación entre la variable y el valor de componente principal. El componente principal PC1 muestra cargas de correlación fuertemente positivas ( $> 0,7$ ) para todos los metales en sedimentos y los metales en *Heleobia australis*. En particular, el cromo, cobre, escandio y níquel en sedimento y el cobre, níquel y el cinc en *Heleobia*, tienen cargas positivas mayores a 0,9 en el eje PC1. El eje PC1 también muestra carga moderadamente positiva ( $> 0,5$ ) para los sólidos suspendidos totales, fuertemente positivas ( $> 0,7$ ) para fósforo total en sedimento y mayores a 0,9 para nitrato en agua y nitrógeno total en sedimento. El oxígeno disuelto presenta en el componente principal PC1, una carga fuertemente negativa ( $< -0,9$ ). Por la correlación positiva con los metales en ambas matrices y con los nutrientes en sedimento y en agua, se puede interpretar que el componente principal PC1 representa el aporte contaminante antrópico.

El componente principal PC2 muestra una carga fuertemente negativa ( $< -0,7$ ) respecto de la materia orgánica en sedimento y medianamente negativa respecto del arena gruesa. Muestra también una carga fuertemente positiva ( $> 0,7$ ) con el pH y moderadamente positiva con la arena fina.

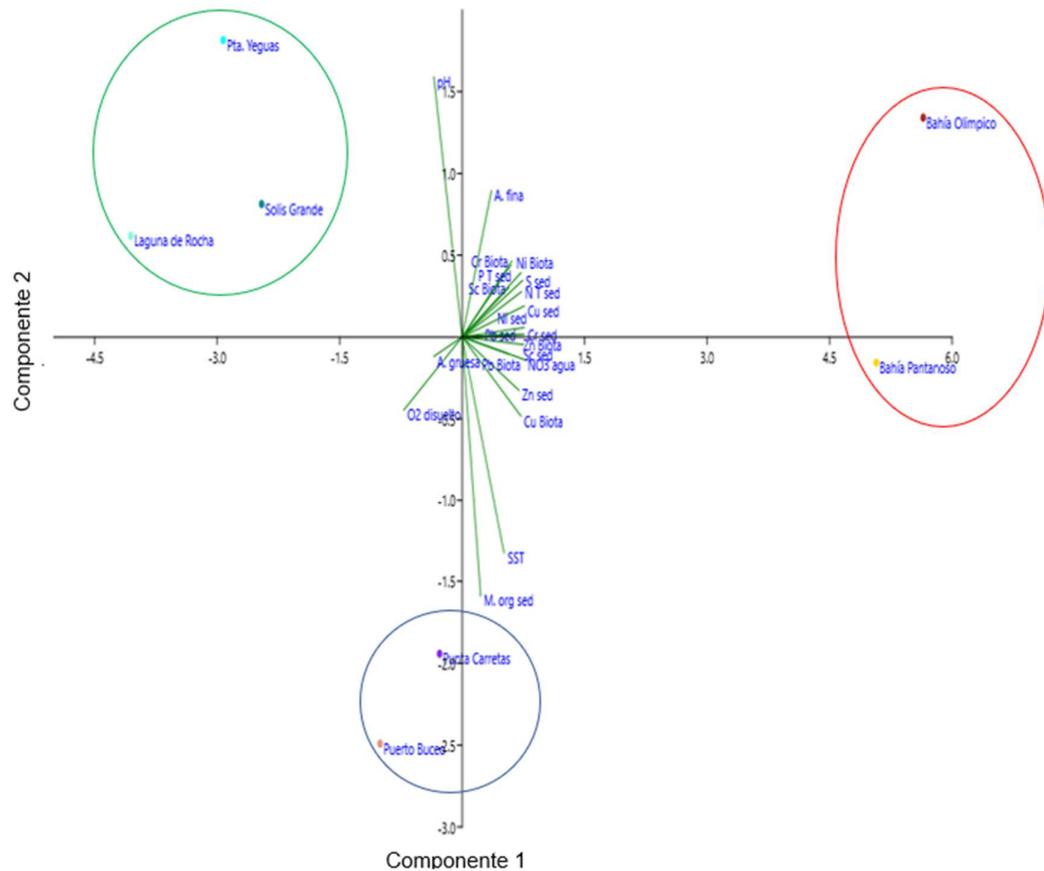


Figura 61. Análisis de componentes principales (ACP) de la matriz ambiental reducida. En el eje horizontal encontramos el PC1 marcado como componente 1 y en vertical el PC2 marcado como componente 2. El grupo 1 de sitios está marcado con elipse en verde, el grupo 2 en rojo y el grupo 3 en azul

Se realizó un segundo análisis de componentes principales (ACP) con los índices de contaminación por metales en sedimento y en *Heleobia* para comprobar que esos índices realmente puedan ser capaces de reflejar lo que se vio con las variables ambientales y poder discriminar los sitios de muestreos con pocas variables de acuerdo con su grado de contaminación. Como variables para el ACP, se utilizaron los índices de contaminación por metales en sedimento de factor enriquecimiento global (GEF) y su variante relativa al *background* de Laguna de Rocha, el índice de carga contaminante (PLI) y el grado de contaminación modificada (*mCd*). También se incluyeron los siguientes índices de contaminación por metales en *Heleobia australis*: índices de contaminación metálica (MPI) y el índice de carga contaminante en

*Heleobia* ( $PLI_{Hel}$ ). Los datos fueron transformados restándoles a cada dato la media y dividiendo por el desvío estándar de los datos correspondientes a cada variable.

El resultado del ACP con índices de contaminación por metales, también logró agrupar los sitios de muestreo en tres grupos: en el grupo 1 los sitios de Punta Yeguas, Laguna de Rocha y Arroyo Solís, en el grupo 2 los dos puntos de la Bahía de Montevideo (desembocadura del Arroyo Pantanoso y Estadio Olímpico) y en el grupo 3 las playas de Punta Carretas y del Puerto del Buceo (Figura 62). Los dos primeros componentes principales (PC1 y PC2) logran explicar un 99,2 % de la varianza (PC1 un 88,8% y PC2 un 10,4%) por lo que son representativos de la mayor parte de los datos.

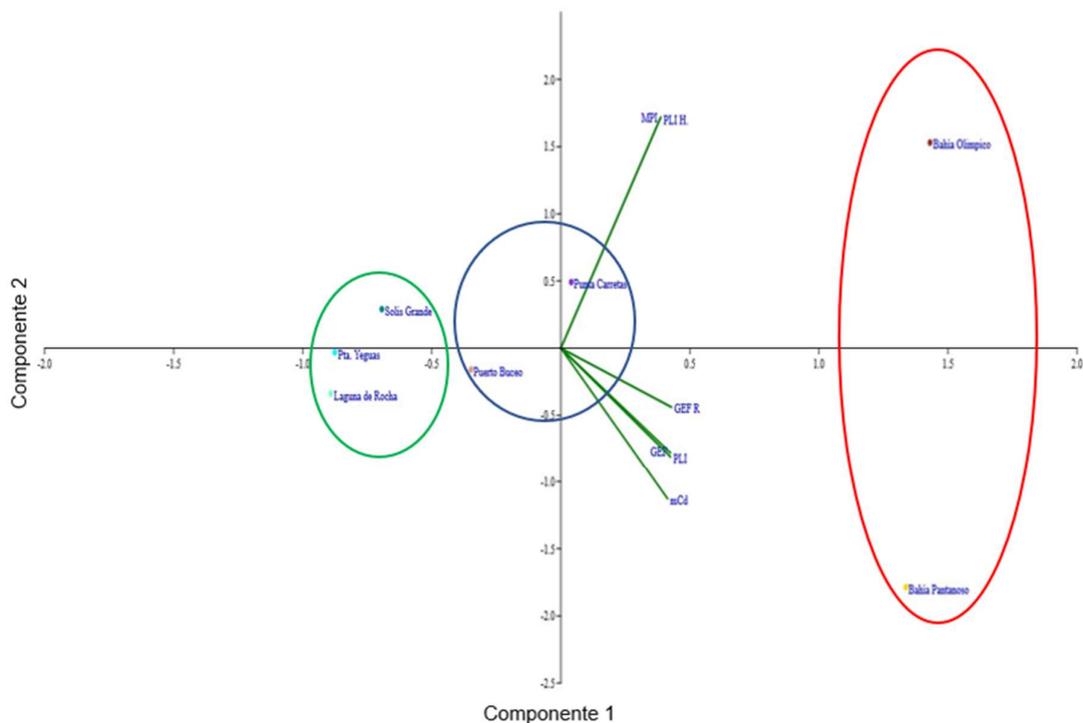


Figura 62. Análisis de componentes principales (ACP) de la matriz de índices de contaminación ambiental en sedimento y en *Heleobia*. En el eje horizontal encontramos el PC1 marcado como componente 1 y en vertical el PC2 marcado como componente 2. El grupo 1 de sitios está marcado con elipse en verde, el grupo 2 en rojo y el grupo 3 en azul.

El componente principal PC1 muestra correlación fuertemente positiva para todos los índices utilizados, mayores a 0,9 en los índices de contaminación por metales en sedimento y entre 0,8 y 0,9 para los índices de contaminación en *Heleobia australis*. El componente principal PC1 se puede interpretar como contaminación metálica en general (para las dos matrices) y marca una mayor contaminación para los puntos de la Bahía de Montevideo seguido por la playa de Punta Carretas y luego la playa del Puerto del Buceo y en el grupo de menor contaminación metálica marcado con elipse verde en la figura 62, encontramos el Arroyo Solís Grande seguido de Punta Yeguas y Laguna de Rocha. El componente 2 (PC2) logra una gran separación de los puntos de la Bahía de Montevideo. El componente principal PC2 tiene cargas de correlación positivas para los índices de contaminación por metales en *Heleobia australis* y negativas para los índices de contaminación por metales en sedimento. Los índices MPI y  $PLI_{HBI}$  explicarían la posición en valores positivos en el eje PC2 del sitio de la Bahía de Montevideo correspondiente al Estadio Olímpico ya que, comparado con el punto de la desembocadura del Arroyo Pantanoso, esos índices son mayores. Para el sitio de la desembocadura del Arroyo Pantanoso los índices que más pesan para que tenga un valor negativo en el eje PC2 es el elevado valor de los índices de contaminación por metales en sedimentos.

## 6- Discusión

Se analizaron diversos parámetros fisicoquímicos del agua y de los sedimentos en cada uno de los sitios de muestreo seleccionados a efectos de poder correlacionarlos con los contenidos de metales en sedimentos y en los tejidos blandos de *Heleobia australis* y generar una mayor comprensión de los procesos de acumulación de metales en esas matrices para cada sitio.

Los resultados de análisis fisicoquímicos en agua marcan valores máximos de nutrientes (fósforo total, nitrato y nitrógeno total) en los dos puntos de la Bahía de Montevideo: desembocadura del Arroyo Pantanoso (Pantanoso) y frente al Estadio Olímpico (Olímpico). Estos valores son máximos en la desembocadura del Arroyo Pantanoso a través del cual llegan a la Bahía de Montevideo, efluentes industriales con elevadas cargas de fósforo total y amonio de industrias que, en su mayor parte, no tienen un tratamiento de efluentes adecuado para minimizar el vertido de nutrientes (IMM, 2015). El oxígeno disuelto medido supera en todos los puntos el valor de 5 mg/L establecido en el Decreto 253/79 para las aguas de clase IIb y III, siendo mínimo en los puntos de Bahía de Montevideo, y en particular en la desembocadura del Arroyo Pantanoso. Los sitios que le siguen en cuanto a niveles elevados de nitrato y nitrógeno total son la playa del Puerto del Buceo y luego la de Punta Carretas. El fósforo total

por su parte muestra un valor mayor en Punta Yeguas respecto del Puerto de Buceo y Punta Carretas, aunque bastante por debajo de los valores de Bahía de Montevideo. La salinidad en los sitios fue muy cambiante, siendo máximas en Punta Yeguas y en los dos puntos de Bahía de Montevideo (entre 28,5 y 30,7‰) que fueron muestreados el mismo día. El siguiente sitio de mayor salinidad fue el del Arroyo Solís Grande. El comportamiento del contenido de sulfato a lo largo de todos los sitios es igual al de la salinidad, lo que es esperable por ser un anión muy abundante en agua de mar (Kasten & Jørgensen, 2000). El contenido de sulfato en agua marina suele estar en el entorno de 28 mM (2,69 g/L) que es muy cercano a los valores encontrados en los sitios de Bahía de Montevideo y en Punta Yeguas donde la salinidad fue la mayor respecto al resto de los sitios de muestreo (Canfield & Farquhar, 2009). La turbiedad siguió un patrón inverso a la salinidad y al sulfato, siendo más bajas en Punta Yeguas y la Bahía de Montevideo y mayores en Puerto de Buceo y Punta Carretas que fueron muestreados en días diferentes. Esta diferencia en los resultados en sitios muestreados en días diferentes puede ser explicado por cambios en la posición del frente de máxima turbiedad de este a oeste dependiendo de los vientos predominantes, de la marea y de la descarga de los ríos. Además de esto, vientos fuertes no predecibles pueden producir en pocas horas condiciones de mezcla parcial, lo que le aporta una gran variabilidad al sistema (Acha *et al.*, 2008).

Los análisis fisicoquímicos de los sedimentos muestran, de acuerdo con los resultados de distribución de tamaño de partículas, una predominancia de la fracción de arena fina en los puntos de Punta Yeguas y los dos puntos de la Bahía de Montevideo, con abundancias del 86% en Punta Yeguas y entre 60 y 70% en Bahía de Montevideo. El porcentaje de arena fina en la desembocadura del Pantanoso es mayor que en frente al Estadio Olímpico. El mayor porcentaje de limo (31,7%) se encontró en la playa del Puerto del Buceo sumado al mayor porcentaje de arena muy fina (27,2%). La playa de Punta Carretas y el Arroyo Solís Grande están dominados por arena media, mientras que la Laguna de Rocha tiene grandes porcentajes de arena media y gruesa (41,0 y 38,8% respectivamente) pero también un 8,8% de limo. El muy bajo porcentaje de limo en los puntos de Bahía de Montevideo no va de acuerdo con trabajos anteriores (Muniz *et al.*, 2011, 2019) y podría ser explicado por la intensa influencia del mar, normalmente asociado a la prevalencia de arena fina, en el día de muestreo que sumado a un intenso viento norte permitió el acceso al punto de muestreo caminando. El análisis de la materia orgánica en sedimentos da un valor máximo de 3,55g/100g en la playa del Puerto del Buceo, seguido por la playa de Punta

Carretas y la desembocadura del Arroyo Pantanoso y Estadio Olímpico. Los valores de materia orgánica en los sedimentos de Bahía de Montevideo (1,9 y 1,4 g/100g en Pantanoso y Olímpico respectivamente) son inferiores a los reportados en trabajos previos que oscilaban entre 7 y 10 g/100g (Muniz *et al.*, 2019) para puntos cercanos. La explicación puede ser la misma que para el limo. El sistema de la Bahía de Montevideo suele ser de baja energía favoreciendo acumulación de sedimentos con fracciones finas (Fossati *et al.*, 2014), pero las condiciones del sistema en el día del muestreo mostraban una gran influencia de agua de mar con un importante desplazamiento de la masa de agua debido al intenso viento norte. Ese desplazamiento del agua de manera rápida pudo haber arrastrado parcialmente las fracciones más finas de sedimento y con ello parte de la materia orgánica originalmente presentes. La dinámica de los sedimentos finos en la Bahía de Montevideo es afectada por las forzantes de las corrientes y por las olas lo que genera una gran resuspensión de los mismos durante eventos de tormenta (Santoro, 2017)

Los sedimentos de los dos sitios de la Bahía de Montevideo presentaron los mayores valores para fósforo total y para nitrógeno total al igual que en la matriz agua. El mayor valor del fósforo total en sedimentos fue en el sitio de Estadio Olímpico con 1700 mg/Kg. Similares valores (1520 mg/Kg) se encontraron en el trabajo de García-Alonso *et al.* de 2017 en la desembocadura del Arroyo Pantanoso. En este muestreo el valor de fósforo total fue significativamente menor (445 mg/Kg) en ese punto. El nitrógeno total en sedimentos dio menor que el contenido de fósforo total para todos los sitios de muestreo con la excepción de la desembocadura del Arroyo Pantanoso en la Bahía de Montevideo (donde se encontró el mayor nivel de nitrógeno total en sedimento) y en el Arroyo Solís Grande. Se analizaron los contenidos de sulfuro volátiles en ácido (AVS) en los sedimentos. Los sitios de muestreo que presentaron mayores valores de sulfuro AVS en sedimento fueron los dos de Bahía de Montevideo siendo mayores en la desembocadura del Arroyo Pantanoso. Los niveles de sulfuro en sedimentos están también vinculados a los efluentes industriales vertidos a través del Arroyo Pantanoso principalmente por las curtiembres de su cuenca y por la refinería de La Teja de ANCAP (28 y 5,1 Kg/día respectivamente, valores de IMM, 2015). Los valores de sulfuro AVS para esos puntos no reflejan completamente el sulfuro total ya que especies como el sulfuro de cobre con constantes de solubilidad muy bajas no son recuperadas adecuadamente por el método de sulfuro AVS (EPA 9030B). El sitio del puerto del Buceo es el otro sitio además de los sitios de Bahía, en dar un resultado cuantificable para sulfuro AVS aunque más de diez veces menor. El origen del sulfuro

en sedimentos de la playa del Puerto del Buceo puede tener vinculación con la propia actividad portuaria y el uso de combustibles en la zona que contienen cantidades residuales de sulfuro (Vouk & Piver, 1983).

Se compararon los resultados de todos los metales en sedimento analizados en cada sitio, con los valores de las guías de calidad de sedimentos (SQGs) (Buchman, 2008). Se compararon con los valores de sedimentos de agua dulce y de agua salada que figuran en las guías, dada la naturaleza estuarina de los sedimentos analizados. En ninguno de los sitios se obtuvieron valores que superen los valores de límite de efecto probable (PEL) para los distintos metales. El valor de cobre en los dos puntos de la Bahía de Montevideo supera los valores del nivel umbral de efectos tóxicos (TEL). En la desembocadura del Arroyo Pantanoso se superan los valores de TEL y los niveles de efectos de rango bajo (ERL) para el plomo (considerando los datos para sedimento de agua dulce), por lo que sería probable que pudieran existir efectos tóxicos en los organismos que allí habitan. Los resultados para cobre y plomo son similares a los encontrados en Muniz *et al.*, 2019 donde también los valores máximos para esos mismos metales (y también para cinc, níquel y cromo) quedan por debajo de los valores de PEL pero por encima de los valores TEL. Otro antecedente comparando con los valores guía (SQGs) es el trabajo de García-Alonso *et al.*, 2017 en el cual se encuentran resultados por encima de TEL pero por debajo de PEL para cobre, cromo y plomo en la Bahía de Montevideo. Las concentraciones medias de metal en sedimentos, ordenadas de mayor a menor, siguen el siguiente orden: Zn>Cr>Cu>Pb>Ni>Sc>Hg>Cd. Para todos los metales con excepción del mercurio que solo dio positivo en una réplica de sedimento del Puerto del Buceo, los mayores valores se encontraron en la Bahía de Montevideo. El sitio desembocadura del arroyo Pantanoso es el que presentó mayores valores de concentración de todos los metales en sedimento con la excepción del cromo en el punto de Estadio Olímpico de la Bahía de Montevideo. Los resultados de cromo en sedimentos de la Bahía de Montevideo fueron inferiores al PEL y menores a estudios previos en la zona (Muniz *et al.*, 2015; García-Alonso *et al.*, 2017; Muniz *et al.*, 2019) lo que puede estar asociado a la baja en la producción de las curtiembres.

Se calculó para cada metal y para cada sitio, el factor de enriquecimiento (**FE**) para ponderar por el contenido de metales naturalmente presentes en el sedimento y poder clasificar de ese modo, si el origen de la contaminación es antrópico o bien si es de origen natural (Szefer *et al.*, 1998). Se utilizó escandio como elemento normalizador (Loring & Rantala, 1992). Se decidió utilizar como valor de *background*, las

concentraciones de metales correspondientes a las fracciones de un testigo de la época preindustrial (Birch, 2017). En base a eso se tomaron los valores de un testigo sacado en la zona Bahía de Montevideo BAT 1 (Bueno *et al.*, 2016) tomando los valores promedio para cada metal de las fracciones correspondientes a los años anteriores a 1765. Los resultados muestran un enriquecimiento moderado de cromo en los puntos de la Bahía de Montevideo, Estadio Olímpico y Pantanoso, y en la playa del Puerto del Buceo. En el caso del cobre se observa un enriquecimiento moderado en los dos sitios de muestreo de la Bahía de Montevideo (Sutherland, 2000). El plomo muestra un enriquecimiento moderado en la playa de Punta Yeguas, Puerto del Buceo, Arroyo Solís Grande y Laguna de Rocha. En los dos puntos de Bahía de Montevideo y en la playa de Punta Carretas el enriquecimiento de plomo es significativo. Para el cinc se observa un enriquecimiento moderado para el punto de Bahía de Montevideo Estadio Olímpico y para la playa de Punta Carretas (Del Águila *et al.*, 2005).

Se calcularon los factores de enriquecimiento relativos (FER) respecto del *background* del sedimento de Laguna de Rocha que es el sitio menos impactado (Chen *et al.*, 2022), el principal cambio que se ve respecto de los FE es el aumento de los valores para el cobre haciéndose moderados para los dos puntos de Bahía de Montevideo y el descenso de los valores respecto de los FE para plomo, lo que hace que solo sea moderado el enriquecimiento para el punto de Bahía Estadio Olímpico y moderado para la desembocadura del Arroyo Pantanoso. A pesar de esos cambios, el perfil por sitio de los factores de enriquecimiento global (GEF) utilizando los FE o lo FER para su cálculo, marca un valor máximo para los dos puntos de la Bahía de Montevideo, seguido por las playas del Puerto de Buceo y Punta Carretas y por último los menores valores se obtuvieron en los puntos de Punta Yeguas, Arroyo Solís Grande y Laguna de Rocha (Unda-Calvo *et al.*, 2019). La variación de estos dos índices respecto a los cambios del *background* utilizado, muestra que hay que definir bien el *background* antes de aplicar estos índices. De todos modos, si bien las clasificaciones cambian, las tendencias en sí se conservan, por lo que son útiles para comparar la contaminación de los sedimentos de los sitios entre sí.

Este mismo orden de los sitios en cuanto a su contaminación por metales, se obtuvo usando el índice de carga contaminante (PLI) (Tomlinson *et al.*, 1980) siendo la contaminación significativa para los dos puntos de Bahía de Montevideo y lo mismo utilizando el grado de contaminación modificado (*mCd*) que marca una contaminación de grado bajo para el sitio Estadio Olímpico y medio para el Pantanoso. En ambos

índices calculados usando como *background* el testigo BAT-1 los siguientes valores son los correspondientes a las playas de Punta Carretas y del Puerto del Buceo y con menores valores el Arroyo Solís Grade, Punta Yeguas y la Laguna de Rocha. Estos PLI significativos ( $>1$ ) están en consonancia con los resultados de Muniz *et al.*, 2019 donde dos puntos de la Bahía de Montevideo fueron los únicos sitios en tener un PLI significativo. Al calcular el PLI y el *mCd* usando como *background* los sedimentos de Laguna de Rocha, este orden se sigue manteniendo, aunque con valores mayores que indicarían un mayor grado de contaminación en todos los sitios.

Se analizó el contenido de metales en los tejidos blandos de *Heleobia australis* y en los sedimentos en los que habita, en sitios con diferentes características en cuanto a urbanización e impactos antropogénicos. Con esos datos se determinó el factor de acumulación biota – sedimento (BSAF) a efectos de evaluar la capacidad potencial para acumular metales pesados desde el sedimento (Usero *et al.*, 2005; Berandah *et al.*, 2010). Los resultados muestran un gran potencial para bioacumular cobre y cinc desde el sedimento, catalogándose la *Heleobia australis* como macro concentradora para estos dos metales. Los resultados para bioacumulación de cromo y níquel desde el sedimento indican que la *Heleobia australis* sería catalogada como microconcentradora. En el caso del plomo, los resultados del BSAF dan en promedio 0.95 por lo que se catalogaría la especie como desconcentradora para este metal, pero está muy cerca del valor de 1, que haría que cambie de categoría para ser catalogada como microconcentradora. De hecho, se da la particularidad de que el sitio con la menor bioacumulación de plomo sea en realidad el sedimento con mayor contenido de plomo (desembocadura del Arroyo Pantanoso). Los resultados para el escandio muestran que la *Heleobia australis* debería ser catalogada como desconcentradora para este metal. No se pudo evaluar el potencial bioacumulador del cadmio y del mercurio por ser no cuantificables en la mayor parte de las muestras de sedimento y de *Heleobia australis*. Diversos estudios han catalogado especies de gasterópodos como macroconcentradores de cobre y cinc (Bu-Olayan & Subrahmanyam, 1996; Campana *et al.*, 2013; Corrias *et al.*, 2020). En el trabajo de Bu-Olayan & Subrahmanyam de 1996 se analizaron el contenido de metales en sedimento y en el gasterópodo *L. coronatus* en tres sitios donde se dio un vertido de petróleo durante la guerra del Golfo, realizándose los análisis antes y después del derrame. En los tres sitios se dio una fuerte concentración de metales en *L. coronatus* de Cu y Zn y en menor medida de plomo, respecto a los datos previos. En el trabajo de Campana *et al.* de 2013 se constata el potencial bioacumulador de cobre, cinc y

cadmio por parte del gasterópodo *H. Ulvae* en bioensayos de adiciones estándar de metal en sedimentos en laboratorio. El trabajo de Corrias *et al.* De 2020, evaluó el potencial bioacumulador de tres especies de gasterópodos en costas del Mar Mediterráneo (Italia) presentando las tres especies bioacumulación de cobre y cinc aunque con variaciones entre especies. Dado el potencial de *Heleobia australis* de concentrar grandes cantidades de cobre y cinc desde el sedimento y en menor medida cromo, níquel y plomo, es necesario para la protección de estos organismos, incluir en monitoreos el análisis del contenido de metales en sedimento.

A fin de determinar cuál de los sitios tiene un mayor impacto por la contaminación de metales en los organismos, se determinó el índice de contaminación metálica (MPI) para metales en *Heleobia australis* (Usero *et al.*, 1997) y el índice de carga contaminante aplicado para *Heleobia* ( $PLI_{Hel}$ ) utilizando como *background* las concentraciones de los diferentes metales en *Heleobia* en el sitio de Laguna de Rocha (Angulo, 1996). Los dos índices marcaron a los dos sitios de la bahía de Montevideo como los lugares con mayor contaminación metálica en *Heleobia australis*, siendo el más impactado la desembocadura del Arroyo Pantanoso. Los dos índices marcaron la siguiente tendencia decreciente en cuanto a impacto metálico en *Heleobia australis*: Pantanoso, Olímpico, Punta Carretas, Puerto del Buceo, Arroyo Solís Grande, Punta Yeguas y Laguna de Rocha. En el caso de Laguna de Rocha esa tendencia solo puede evaluarse a través del índice de contaminación metálica (MPI) ya que se utilizó la concentración de metales de Laguna de Rocha como *background* para el cálculo del índice de carga metálica ( $PLI_{Hel}$ ).

De las matrices de correlación lineal de Spearman surge que los nutrientes están generalmente positivamente correlacionados entre sí y con el contenido de metales en sedimento. En algunos casos también la correlación es significativa y positiva con el contenido de algunos metales en *Heleobia australis*. En particular el nitrato y el nitrógeno total en agua se correlacionan positivamente con la mayor parte de los metales en sedimento. En el caso del nitrógeno total se dan correlaciones con cromo, cobre, escandio, níquel, plomo y zinc, y con la concentración de cobre en los tejidos blandos de *Heleobia australis*. El nitrato se correlaciona con las concentraciones de cobre, escandio, níquel, plomo y cinc. Los nutrientes también se correlacionan positivamente con el sulfuro en sedimento lo que indicaría un origen común al igual que los metales. El alto contenido de sulfuro en el punto del Pantanoso podría explicar en parte que el plomo no esté tan biodisponible para *Heleobia* y de ahí el valor tan

bajo de BSAF, pero se necesitarían otro tipo de estudios para explicar la dinámica y biodisponibilidad del plomo en ese punto.

Se pudo observar que los metales que correlacionan sus concentraciones en *Heleobia australis* con las concentraciones del mismo metal en sedimento son el cobre, escandio, níquel, plomo y cinc. El contenido de cinc y plomo en *Heleobia* correlacionan positivamente con el resto de los metales en esa misma matriz. El contenido de metales en *Heleobia* correlaciona positivamente con el contenido de nitrato en agua salvo en el caso de cromo. La correlación positiva del contenido de cobre, cinc y níquel en *Heleobia* respecto a su propio metal en sedimento reafirma la clasificación de concentradora de metales obtenidas a través del BSAF.

La tendencia por sitio de los índices de contaminación por metales en sedimentos GEF, PLI y mCd, y la tendencia marcada por los índices MPI y PLI<sub>Hel</sub> de *Heleobia australis*, son en todos los casos las mismas. Clasificarían en orden decreciente de contaminación por metales a los sitios de la siguiente manera:

Bahía de Montevideo-Pantanosos > Bahía de Montevideo-Olímpico > Punta Carretas ≥ Puerto del Buceo > Arroyo Solís Grande ≥ Punta Yeguas > Laguna de Rocha. Para confirmar esa clasificación se realizaron análisis de componentes principales (ACP) en primer lugar con la matriz de resultados de las diferentes variables ambientales analizadas en agua, sedimento y en *Heleobia australis* y en segundo lugar utilizando todos los índices calculados para sedimento y *Heleobia australis*.

El resultado del ACP con variables ambientales logra a través de dos componentes principales explicar un 80,2% de la varianza, y agrupar los sitios de la misma manera que las tendencias mencionadas. El componente principal 1 representa el aporte contaminante antrópico por su correlación con la concentración de metales en ambas matrices y la mayor parte de los nutrientes en agua y sedimento. En ese eje se mantiene la clasificación antes mencionada con el único cambio en una puntuación levemente mayor en el punto del Estadio Olímpico respecto de la desembocadura del Arroyo Pantanosos. Por un lado, el contenido de metales en sedimentos en el punto de la desembocadura del Arroyo Pantanosos es por lo general mayor respecto al punto de Estadio Olímpico y por otro lado el contenido de metales en *Heleobia australis* es mayor en el punto del Estadio Olímpico. Esto causa que el orden de clasificación por contaminación de metales en el sitio no sea igual para todos los índices. Se pueden agrupar los sitios en tres grupos: el primer grupo de mayor valor en el componente de aporte contaminante antrópico son los dos puntos de la Bahía de Montevideo (Estadio Olímpico y Pantanosos) el segundo grupo está formado por las playas de Punta

Carretas y Puerto del Buceo, y el tercer grupo por la Playa de Punta Yeguas, arroyo Solís Grande y la Laguna de Rocha.

En el segundo ACP se evaluaron los resultados de los distintos índices calculados para cada sitio de muestreo. Se utilizaron los índices de contaminación por metales en sedimento de factor enriquecimiento global (GEF) y su variante relativa al *background* de Laguna de Rocha, el índice de carga contaminante (PLI) y el grado de contaminación modificada (*mCd*). También se incluyeron los índices de contaminación por metales en *Heleobia australis*: índices de contaminación metálica (MPI) y el índice de carga contaminante en *Heleobia* ( $PLI_{Hel}$ ). EL resultado del ACP fue satisfactorio en cuanto a lograr explicar a través de dos ejes un 99,2% de la varianza, y poder agrupar los sitios de muestreos en los mismos tres grupos del análisis ACP para variables ambientales. El componente 1 mostró una fuerte correlación positiva para todos los índices utilizados ( $>0,8$ ) y logró ordenar los grupos de la misma manera que el componente de aporte contaminante antrópico del ACP para variables ambientales. El componente 2 del ACP de índices de contaminación por metales tiene una correlación positiva para los índices de contaminación metálica en *Heleobia* y negativa para la contaminación metálica en sedimentos. Eso logra diferenciar fuertemente los dos puntos de la Bahía de Montevideo en el eje del componente 2 ya que los resultados de factor de acumulación biota-sedimento (BSAF) y el índice de carga contaminante en *Heleobia* son mayores en el sitio del Estadio Olímpico y el contenido de metales en sedimento es mayor en la desembocadura del Arroyo Pantanoso.

Las hipótesis planteadas antes de comenzar se cumplieron en cuanto al potencial de *Heleobia australis* de bioacumular metales. También se cumplieron en cuanto a clasificar la Bahía de Montevideo como el sitio más impactado. El resultado no esperado radica en la baja concentración de metales en sedimento y en *Heleobia australis* y en las buenas condiciones de calidad de agua y sedimentos en general para el Punto de Punta Yeguas. Las explicaciones pueden derivar de la elección del punto de muestreo sobre la playa al carecer de embarcación (por el contexto de la pandemia covid-19) para tomar muestras a 2 km aguas adentro hacia el sur como lo hicieron otros autores que encontraron niveles de contaminación y deterioro de las características bióticas de la zona (Muniz *et al.*, 2005, 2011). El sedimento del sitio elegido en Punta Yeguas tiene una granulometría muy dominada por arena fina y solo un 0,33% de fracción de limo, sumado al menor valor de materia orgánica de los sitios analizados con un 0,52%. De todas maneras, al ser una playa bastante concurrida en verano y sumado a la nueva realidad del emisario submarino en esa zona, es un buen

sitio de muestreo para seguir la evolución en el tiempo de esa comunidad bentónica de *Heleobia australis* y evaluar posibles impactos.

## 7- Conclusiones y Perspectivas

Se pudo determinar el potencial bioacumulador de metales por parte de *Heleobia australis* y hacer una primera aproximación a clasificar el potencial de acumulación para cada metal. El gasterópodo *Heleobia australis* es capaz de concentrar grandes cantidades de cobre y cinc desde el sedimento y en menor medida cromo, níquel y plomo. Los resultados de los índices de calidad de sedimentos y de biota utilizados fueron en general concordantes en clasificar los diferentes sitios de acuerdo con un gradiente de concentraciones de metales.

El uso de *Heleobia australis* para los monitoreos ambientales puede ser una herramienta muy útil para evaluar cómo pueden llegar a impactar la contaminación de metales en la biota en general.

Estudios suplementarios pueden aportar y mejorar el uso de *Heleobia australis* como bioindicador de contaminación metálica. La realización de un estudio comparativo del contenido de metales en las conchas de *Heleobia australis* al análisis de los metales en tejido blando y al organismo completo, aportaría información de cómo se acumulan los diferentes metales en cada una de las partes. De ese modo se podría definir qué tipo de análisis se debería realizar (sobre qué fracción del organismo) para poder hacer un monitoreo para cada metal según donde se acumule más y según cómo refleje el contenido de metales en las otras matrices ambientales. Esto sería muy útil a la hora de evaluar cuánto de ese metal puede ascender en la rama trófica al ser predado por otras especies, dependiendo si acumula en el tejido blando o bien en la concha.

También sería útil comparar los resultados obtenidos de metales en sedimentos en las fracciones menores a 63 micras, respecto al sedimento sacado del mismo modo que en el presente trabajo para ver si correlaciona mejor esa fracción con el contenido de metales en *Heleobia australis*. Hacer muestreos estacionales podría reflejar para cada sitio la variabilidad natural que tiene el sistema estuarino y cómo afecta a la concentración de metales en cada una de las matrices analizadas. El análisis de metales en los sólidos suspendidos totales en agua también ayudaría a entender la cantidad de metales que ingresa por esa vía.

La diferencia del potencial bioacumulador de metales en *Heleobia australis* entre los dos puntos de la Bahía de Montevideo es un estudio que podría continuarse. En caso de seguir el mismo patrón en futuros estudios, sería interesante tratar de esclarecer si la causa es una interacción fuerte de los metales en sedimento con el sulfuro en el sitio Pantanoso que inhibe la acumulación en tejidos de la *Heleobia*, o bien si es debido a un deterioro de los organismos que inhiba las tasas de acumulación de metales o alguna otra causa.

La comparación del potencial bioacumulador de otros organismos de esos sitios (ej. poliquetos, bivalvo *Erodona mactroides*) serviría para evaluar el impacto de esos metales en cada uno de ellos y comprender como serían los mecanismos de acumulación según las características de cada organismo y cómo podrían impactar en la biomagnificación de los metales en el ambiente.

## 8- Bibliografía

Abraham G. M. S., & Parker R. J. 2008. Assessment of heavy metal enrichment factors and the degree of contamination in marine sediments from Tamaki Estuary, Auckland, New Zealand. *Environmental Monitoring and Assessment*, 136(1-3), 227–38.

Angulo E. (1996). The Tomlinson Pollution Load Index Applied to Heavy Metal, "Mussel-Watch" Data: A Useful Index to Assess Coastal Pollution. *Sci. Total Environmen*, 187, 19-56.

ANP (Administración Nacional de Puertos), 2018. Tomo II-1 Estudio de Impacto Ambiental - Terminal Portuaria Especializada en Celulosa en el puerto de Montevideo. [https://www.ambiente.gub.uy/oan/wp-content/uploads/2018/04/5.1-SAAP\\_Tomo-II-1\\_Descripci%C3%B3n-del-medio.pdf](https://www.ambiente.gub.uy/oan/wp-content/uploads/2018/04/5.1-SAAP_Tomo-II-1_Descripci%C3%B3n-del-medio.pdf)

ANP (Administración Nacional de Puertos), 2021. Concesión Terminal Pesquera Puerto Capurro. <https://www.anp.com.uy/sites/default/files/archivos/parrafo-colapsable/2021-09/ANP%20-%20PRESENTACI%C3%93N%20PROYECTO%20PUERTO%20CAPURRO%2030JUL21.pdf>.

Berandah F. E., Yap C. K., Ismail, A. 2010. Bioaccumulation and Distribution of Heavy Metals (Cd, Cu, Fe, Ni, Pb and Zn) in the Different Tissues of *Chicoreus capucinus* Lamarck (Mollusca: Muricidae) Collected from Sungai Janggut, Kuala Langat, Malaysia. *Environment Asia* 3, 65-71.

Birch G.F. 2017. Assessment of human-induced change and biological risk posed by contaminants in estuarine/harbour sediments: Sidney Harbour/estuary (Australia). *Mar. Pollut. Bull.* 116, 234-248. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.12.028>.

Birch G.F. 2023. A review and critical assessment of sedimentary metal indices used in determining the magnitude of anthropogenic change in coastal environments. *Science of the total Environment* 854 (2023) ,1581 -29. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.1581.29>

Buchman M.F. 2008. Screening Quick Reference Tables. NOAA OR&R Report 08-1. Office of Response and Restoration Division, National Oceanic and Atmospheric Administration, Seattle WA, 34 pp.

Bueno C., Brugnoli E., Figueira R., Muniz P., García-Rodríguez F. 2016. Economic and environmental policies that influenced the input of metals in Montevideo Bay, Río de la Plata. *Mar. Pollut. Bull.* 113, 141–146.

Bu-Olayan A.H, Subrahmanyam M.N.V. 1996. Accumulation of copper, nickel, lead and zinc by snail, *Lunellu coronatus* and pearl oyster, *Pinctada radiata* from the Kuwait coast before and after the gulf war oil spill. *The Science of the Total Environment* 197 (1997) 161-165.

Campana O., Rodríguez A., Blasco J. 2013. Evaluating the suitability of *Hydrobia ulvae* as a test species for sediment metal toxicity testing applying a tissue residue approach to metal mixtures in laboratory and field exposures. *Chemosphere* 91 (2013) 1136–1145. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.018>

Canfield D.E., Farquhar J. 2009. Animal Evolution, Bioturbation, and the Sulfate Concentration of the Oceans. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 106, 8123–8127. doi:10.1073/pnas.0902037106

Castiglioni D., Rezende CE., Muniz P., Muir A.L., García-Alonso J. 2018. Trace metals bioavailability approach in intertidal estuarine sediments and bioaccumulation in associated nereidid polychaetes. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 100: 472-476.

Chen C.F., Lim Y.C., Ju Y.R., Albarico F.P., Chem, C.W., Dong C.D. 2022. Comparing the applicability of ecological risk indices of metals based on PCA-APCS-MLR receptor models for ports surface sediments. *Mar. Pollut. Bull.* 185 (2022) 114361. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.114361>

Corrias F., Atzei A., Addis P., Secci M., Russo M. Angioni A. 2020. Integrated environmental evaluation of heavy metals and metalloids bioaccumulation in invertebrates and seaweeds from different marine coastal areas of sardinia, mediterranean sea. *Environmental Pollution* 266 (2020) 115048. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115048>

Costanza R., D'Arge R., De Groot R., Farberk S., Grasso M., Hannon B., Limburg K., Naeem S., O'Neill R., Paruelo J., Raskin R., Sutton P., Van den Belt M. 1997. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature* 387, 253–260.

Dang F., Rainbow P.S., Wang W. 2012. Dietary toxicity of field-contaminated invertebrates to marine fish: Effects of metal doses and subcellular metal distribution. *Aquatic Toxicology* 120-121.

Del Águila P., Lugo de la Fuente J., Vaca R. 2005. Determinación de Factores de Enriquecimiento y Geoacumulación de Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, y Zn en suelos de la cuenca alta del río Lerma. *Ciencia Ergo Sum (Rev. Univ. Autónoma del Estado de México)*, 12: 155-161.

Defeo O., Horta S., Carranza A., Lercari D., de Álava A., Gómez J., Martínez G., Lozoya J.P., Celentano E., 2009. Hacia un Manejo Ecosistémico de Pesquerías. *Áreas Marinas Protegidas en Uruguay*. Facultad de Ciencias-DINARA, Montevideo pp. 122.

Elliott M., 2011. Marine science and management means tackling exogenic unmanaged pressures and endogenic managed pressures – a numbered guide. *Mar. Pollut. Bull.* 62, 651–655.

Elliott M., Burdon D., Atkins J.P., Borja A., Cormier R., De Jonge V.N., Turner R.K.. 2017. “And DPSIR begat DAPSI(W)R(M)!” - A unifying framework for marine environmental management. *Marine Pollution Bulletin* 118 (2017) 27–40.

EPA (1996a) Acid-soluble and Acid-insoluble Sulfides: Distillation. Method 9030B

Fernández V., Resnichenko Y. 2005. Contribuciones a la gestión costera: Un caso de aplicación de nuevas tecnologías para apoyar la integración en la costa uruguaya. En *De lo local a lo Global: Nuevas Tecnologías de la Información Geográfica para el Desarrollo*, 359 – 372, Universidad de Extremadura Servicio de Publicaciones, España

Fiori S., Carcedo MC. 2011. Estado actual del conocimiento sobre *Heleobia australis* y perspectivas futuras. *Sociedad Malacológica de Chile (SMACH)*. *Amici Molluscarum*, Número especial: 11-48.

Folk R.L. and Ward, W.C. 1957 A Study in the Significance of Grain-Size Parameters. *Journal of Sedimentary Petrology*, 27, 3-26.

<https://doi.org/10.1306/74D70646-2B21-11D7-8648000102C1865D>

Fossati M., Cayocca F., and Piedra-Cueva I. 2014. Fine sediment dynamics in the Río de la Plata. *Adv. Geosci.*, 39, 75–80. <https://doi.org/10.5194/adgeo-39-75-2014>, 2014.

FREPLATA. 2004. Análisis Diagnóstico Transfronterizo del Río de la Plata y su Frente Marítimo. Documento Técnico. Proyecto Protección Ambiental del Río de la Plata y su Frente Marítimo. Proyecto PNUD/GEF/RLA/99/G31.

García-Alonso J., Lercari D., Araujo B.F., Almeida M.G., Rezende C.E. 2017. Total and extractable elemental composition of the intertidal estuarine biofilm: Disentangling natural and anthropogenic influences. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 187 53-61.

Giménez L., Dimitriadis C., Carranza A., Borthagaray A.I., Rodríguez M. 2006. Unravelling the complex structure of a benthic community: a multiscale–multianalytical approach to an estuarine sandflat. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 68, 462–472.

Giménez L., Venturini N., Kandratavicius N., Hutton M., Lanfranconi A., Rodriguez M., Brugnoli E., Muniz P. 2014. Macrofaunal patterns and animal-sediment relationships in Uruguayan estuaries and coastal lagoons (Atlantic coast of South America). *J. Sea Res.* 87, 46-55.

Gómez-Erache M., Norbis M., Baster D. 2000. Wind effect as forcing factor controlling distribution and diversity of copepods in a shallow temperate estuary (Solís Grande, Uruguay). *Sci. Mar.* 64, 87–95.

Guerrero R.A., Acha EM, Framiñan MB, Lasta CA. 1997. Physical oceanography of the Rio de la Plata Estuary, Argentina. *Cont Shelf Res* 17:727–742.

Guerrero R.A., Piola A.R., Molinari G.N., Osiroff A.P., Jauregui S.I., 2010. Climatología de temperatura y salinidad en el Río de la Plata y su Frente Marítimo. Argentina-Uruguay. Publicaciones Especiales INIDEP, Mar del Plata. 95 pp.

Hammer, Ø., Harper, D.A.T., & Ryan, P.D. (2001). PAST-palaeontological statistics, ver. 1.89. Paleontological Museum, University of Oslo, Noruega. (<http://folk.uio.no/ohammer/past/index.html>).

Hutton M. 2011. Evaluación del estado de calidad ambiental en la costa de Montevideo. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias, Udelar, 79p.

IMM (Intendencia Municipal de Montevideo), 2012. Informe Ambiental Resumen. Sistema de Disposición Final de Saneamiento de la Zona Oeste de Montevideo. [https://montevideo.gub.uy/sites/default/files/iar\\_final\\_psuiv\\_20121.pdf](https://montevideo.gub.uy/sites/default/files/iar_final_psuiv_20121.pdf)

IMM (Intendencia Municipal de Montevideo), 2020. Ya está en marcha el Sistema de Disposición Final Oeste. <https://montevideo.gub.uy/noticias/medio-ambiente-y-sostenibilidad/ya-esta-en-marcha-el-sistema-de-disposicion-final-oeste>

Informe GEO Uruguay. 2008. Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA), Centro Latino Americano de Ecología Social (CLAES) Dirección Nacional de Medio Ambiente (DINAMA). Informe del estado del medio ambiente. Publicado por el Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente, Oficina Regional para América Latina y el Centro Latino Americano de Ecología Social.

Jakimska A., Konieczka P., Skóra K., Namieśnik J., 2011. Bioaccumulation of Metals in Tissues of Marine Animals, Part I: the Role and Impact of Heavy Metals on Organisms. *Pol. J. Environ. Stud.*, 20 (5): 1117-1125.

Kalman J., Smith B.S., Riba I., Blasco J., Rainbow P.S. 2010. Byodynamic modelling of the accumulation of Ag, Cd and Zn by the deposit-feeding polychaete *Nereis diversicolor*: Inter-population variability and a generalized predictive model. *Marine Environmental Research* 69, 363-373.

Kasten S., Jørgensen B.B. (2000). Sulfate Reduction in Marine Sediments. In: Schulz, H.D., Zabel, M. (eds) *Marine Geochemistry*. Springer, Berlin, Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-04242-7\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-662-04242-7_8)

Krzyzanowski J. 2012. Environmental pathways of potential impacts to human health from oil and gas development in northeast British Columbia, Canada. Published by NRC Research Press. *Environ. Rev.* 20: 122–134 (2012) doi:10.1139/A2012-005

Long E.R., MacDonald D.D., Smith S.L., Calder F.D. 1995. Incidence of adverse biological effects within ranges of chemical concentrations in marine and estuarine sediments. *Environmental Management*, 19: 81-97.

Long E.R., Field L.J., MacDonald D.D. 1998. Predicting toxicity in marine sediments with numerical sediment quality guidelines. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17(4): 715-727.

Luoma S.N., Rainbow P.S. 2008. *Metal Contamination in Aquatic Environments: Science and Lateral Management*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Macdonald D.D., Carr R.S., Calder F.D., Long E.R., Ingersoll C.G. 1996. Development and evaluation of sediment quality guidelines for Florida coastal waters. *Ecotoxicology*. 1996 Aug;5(4):253-78.

MacDonald D.D., Ingersoll C.G. and Berger T.A. 2000. Development and Evaluation of Consensus-Based Sediment Quality Guidelines for Freshwater Ecosystems. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 39(1). 20-31.

Magnone L, Bessonart M., Rocamora M., Gadea J., Salhi M. 2015. Diet estimation of *Paralichthys orbignyanus* in a coastal lagoon via quantitative fatty acid signature analysis. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 462, 36–49.

Marrero A. 2016. Distribución espacial de metales pesados, evolución histórica reciente e impacto antrópico en el Río de la Plata. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias, Udelar, 179p.

- McLusky D.S., Elliott M. 2006. *The Estuarine Ecosystem: ecology, threats and management*. Third Ed. Oxford University Press.
- Menéndez A., Jaime P. 2002. Análisis del régimen hidrológico de los ríos Paraná y Uruguay. Informe Técnico INA, LHA 05-216-02. [www.freplata.org](http://www.freplata.org).
- Milessi A.C., Calliari D., Rodríguez-Graña L., Conde D., Sellanes J., Rodríguez-Gallego L. 2010. Trophic mass-balance model of a subtropical coastal lagoon, including a comparison with a stable isotope analysis of the food-web. *Ecological Modelling* 221: 2859–2869.
- Miller J.R., 2007. *Contaminated Rivers: A Geomorphological-Geochemical Approach to Site Assessment and Remediation*. Published by Springer. 10.1007/1-4020-5602-8.
- Moyano M., Moresco H., Blanco J., Rosadilla M., Caballero A. 1993. Baseline studies of coastal pollution by heavy metals, oil and PAHs in Montevideo. *Marine Pollution Bulletin* 26: 461–464.
- Muniz P., Venturini N. 2001. Spatial distribution of the macrozoobenthos in the Solis Grande stream estuary (Canelones-Maldonado, Uruguay). *Brazilian Journal of Biology* 61: 409-20.
- Muniz P., Danulat E., Yannicelli B., García-Alonso J., Medina G., Bicego M. 2004. Assessment of contamination by heavy metals and petroleum hydrocarbons in sediments of Montevideo Harbour. *Environmental International* 29, 1019-1028.
- Muniz P., Venturini N., Pires-Vanin A., Tomassi L.R., Borja A. 2005. Testing the applicability of a Marine Biotic Index (AMBI) to assessing the ecological quality of soft-bottom benthic communities, in the South America Atlantic region. *Marine Pollution Bulletin* 50, 624-637.
- Muniz P., Venturini N., Hutton M., Kandratavicius N., Pita A., Brugnoli E., Burone L., Garcia-Rodriguez F. 2011. Ecosystem health of Montevideo coastal zone: A multi approach using some different benthic indicators to improve a ten-year-ago assessment. *Journal of Sea Research* 65, 38-50.
- Muniz P., Hutton M., Kandratavicius N., Lanfranconi A., Brugnoli E., Venturini N., Giménez L. 2012. Performance of biotic indices in naturally stressed estuarine environments on the Southwestern Atlantic coast (Uruguay): a multiple scale approach. *Ecological Indicators* 19, 89–97.
- Muniz P., Cunha Lana P., Venturini N., Elias R., Vallarino E., Bremec C., Castro Martins D., Sandrini Neto L. 2013. *Un manual de protocolos para evaluar la contaminación marina por efluentes domésticos*. ISBN: 978-9974-0-0899-1 UdelaR, Montevideo.
- Muniz P., Venturini N., Martins C.C., Garcia-Rodriguez F., Brugnoli E., Lindroth Al., Bicego Mc., García-Alonso J.I. (2015). Integrated assessment of contaminants and monitoring of an urbanized temperate harbor (Montevideo, Uruguay): a twelve-year comparison. *Brazilian Journal of Oceanography*. 63(3) 311-330.
- Muniz P., Marrero A., Brugnoli E., Kandratavicius N., Rodriguez M., Bueno C., Venturini N., Figueira R. CL. 2019. Heavy metals and As in surface sediments of the north coast of the Río de la Plata estuary: Spatial variations in pollution status and adverse biological risk. *Regional Studies in Marine Science* 28 (2019) 100625.

Panario D., Gutierrez O. 2006. Dinámica y fuentes de sedimentos de las playas uruguayas, en Menafrá, R, Rodríguez-Gallego, L., Scarabino, F., Conde, D (eds.), Bases para la conservación y el manejo de la costa uruguaya: Montevideo, Vida Silvestre Uruguay, 21-34.

Praveena S.M., Radojevic M., Abdullah M.H. 2007. The assessment of mangrove sediment quality in Mengakabong lagoon: An index analysis approach. *Int. J. Environ. Sci. Educ.* 2, 60–68.

Rainbow P.S. 1995. Metal Availability in the Marine Environment. *Marine Pollution Bulletin*, Vol. 31, Nos 4-12, pp. 183-192.

Rumolo P., Barra M., Gherardi S., Marsella E., & Sprovieri, M. (2011). Stable isotopes and C/N ratios in marine sediments as a tool for discriminating anthropogenic impact. *Journal of Environmental Monitoring*, 13(12), 3399. <https://doi.org/10.1039/C1EM10568J>

Santoro P, Fossati M., Tassi P., Huybrechts N., Pham Van Bang D., Piedra-Cueva I. 2017. A coupled wave–current–sediment transport model for an estuarine system: Application to the Río de la Plata and Montevideo Bay. *Applied Mathematical Modelling* Volume 52, December 2017, Pages 107-130. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apm.2017.07.004> 0307-904X

Soil Survey Staff. 2014. Kellogg Soil Survey Laboratory Methods Manual . Soil Survey Investigations Report No. 42, Version 5.0. R. Burt and Soil Survey Staff (ed.). U.S. Department of Agriculture (USDA), Natural Resources Conservation Service.

Solaun O., Roríguez J.G., Borja A., González M., Sainz-Salinas J.I. 2013. Biomonitoring of metals under the water framework directive: Detecting temporal trends and abrupt changes, in relation to the removal of pollution sources". *Marine Pollution Bulletin* 67, 26–35.

Sutherland R.A. 2000. Bed sediment-associated trace metals in an urban stream, Oahu, Hawaii. *Environmental Geology*, 39(6): 611–627.

Szefer P., Glasby G. P., Szefer K., Pempkowiak J. and Kaliszan R. 1996. Heavy-metal pollution in surficial sediments from the southern Baltic Sea of Poland. *J. Environ. Sci. Health* 31A, 2723-2754.

Szefer P., Kusak A., Szefer K., Glasby G.P., Jankowska H., Wolowicz M., Ali A.A., 1998. Evaluation of the anthropogenic influx of metallic pollutants into Puck Bay, Southern Baltic. *Appl. Geochem.* 13, 293–304.

Tomlinson D. L., Wilson J. G., Harris C. R., & Jeffrey D. W. 1980. Problems in the assessment of heavy-metal levels in estuaries and the formation of a pollution index. *Helgoländer Meeresuntersuchungen*, 33(1-4), 566–575.

Unda-Calvo J., Ruiz-Romera E., de Vallejuelo S. F. O., Martínez-Santos M., & Gredilla A. (2019). Evaluating the role of particle size on urban environmental geochemistry of metals in surface sediments. *Science of the Total Environment*, 646, 121-133.

Usero J., Gonzalez-Regalado E., Gracia I. 1997. Trace metals in the bivalve molluscs *Ruditapes decussatus* and *Ruditapes philippinarum* from the Atlantic Coast of Southern Spain. *Environ. Int.* 23 (3), 291–298.

Usero J., Morillo J., Gracia I. 2005. Heavy metal concentrations in molluscs from the Atlantic coast of southern Spain. *Chemosphere* 59, 1175–1181.

Usero J., Morillo J., El Bakouri H. 2008. A general integrated ecotoxicological method for marine sediment quality assessment: Application to sediments from littoral ecosystems on Southern Spain's Atlantic coast - *Marine Pollution Bulletin* 56, 2027–2036.

Venturini N., Bicego M., Taniguchi S., Sasaki S., García-Rodríguez F., Brugnoli E., Muniz P. 2015. A multi-molecular marker assessment of organic pollution in shore sediments from the Río de la Plata Estuary, SW Atlantic. *Mar. Pollut. Bull.* 91, 461–475

Villar S., Kandratavicius N., Martinez S. & Muniz P. 2015. Single cell gel electrophoresis as a tool to assess genetic damage in *Heleobia cf. australis* (Mollusca: Gastropoda) as sentinel for industrial and domestic pollution in Montevideo bay (Uruguay). *Brazilian Journal of Oceanography (BJOCE)*, 63(3):347-354.

Vouk V., Piver T. 1983. Metallic Elements in Fossil Fuel Combustion Products: Amounts and Form of Emissions and Evaluation of Carcinogenicity and Mutagenicity. *Environmental Health Perspectives*. Vol. 47, pp. 201-225, 1983.

YCU (Yacht Club del Uruguay), 2021. Informe antecedentes y estado actual del dragado – Puerto del Buceo. [https://www.ycu.org.uy/articleId\\_\\_c470662b-78d3-4e96-80cb-5c42770e5e97/2126/Noticias-View](https://www.ycu.org.uy/articleId__c470662b-78d3-4e96-80cb-5c42770e5e97/2126/Noticias-View)