

METALES PESADOS EN CUATRO ESPECIES DE ORGANISMOS FILTRADORES DE LA REGION COSTERA DE MAZATLAN: TECNICAS DE EXTRACCION Y NIVELES DE CONCENTRACION

FEDERICO PAEZ-OSUNA*, GILDARDO IZAGUIRRE-FIERRO**, ROSA I. GODOY-MEZA*, FERNANDO GONZALEZ-FARIAS* Y JOSE ISIDORO OSUNA-LOPEZ***

* Laboratorio de Microbiología y Oceanografía Química.
Estación Mazatlán, Instituto de Ciencias del Mar y
Limnología, UNAM, Apartado Postal 811, Mazatlán, 82000, Sinaloa, México.

** Proyecto Académico de Maestría y Doctorado en Ciencias del Mar de la UACPyP de CCH, UNAM.

*** Escuela Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa, Apartado Postal 610, Mazatlán, 82000, Sinaloa, México.

(Recibido febrero 1988, aceptado noviembre 1988)

RESUMEN

Fue investigado el efecto de la composición de la mezcla ácida y la cantidad de muestra digerida sobre la eficiencia de la extracción de metales pesados en cuatro organismos marinos para el análisis subsecuente por espectrofotometría de absorción atómica. Se encontró que la composición de la mezcla ácida tiene un efecto importante sobre la efectividad de la extracción y consecuentemente sobre las concentraciones de los metales medidos. Con las condiciones de extracción óptimas, se procedió a analizar el contenido de Cu, Cr, Co, Cd, Ni, Mn, Fe, Pb y Zn en cuatro organismos filtradores (*Crassostrea corteziensis*, *Mytella strigata*, *Zygomycale parishii* y *Sigmatocia caerulea*) y posteriormente se compararon los niveles detectados con los existentes en la literatura.

ABSTRACT

The acid extraction of heavy metals from four marine organisms for subsequent analysis by atomic absorption spectrometry was investigated, with particular attention given to the effect on extraction efficiency of the acid mixture as well as the amount of sample digested. It was found that the composition of the acid mixture used in the digestion has an important effect on the concentration of metals measured. With the optimum conditions of extraction a study of the levels of Cu, Cr, Co, Cd, Ni, Mn, Fe, Pb and Zn, in the four filter feeders organisms (*Crassostrea corteziensis*, *Mytella strigata*, *Zygomycale parishii* and *Sigmatocia caerulea*) collected from the Harbor and Bay of Mazatlan were analysed.

INTRODUCCION

El análisis de organismos marinos potencialmente útiles como indicadores de contaminación, es un aspecto importante de la química analítica ambiental. Recientemente, los metales pesados han llamado la atención debido a los efectos nocivos que éstos pro-

ducen; de allí que sea imperante estudiarlos en organismos marinos, contando con un método analítico confiable. Existen numerosos trabajos que discuten la posibilidad de conocer la calidad de las aguas costeras a partir del análisis de contaminantes en organismos filtradores tales como los bivalvos y las esponjas que son capaces de acumularlos tanto por sus hábitos alimentarios como por su condición sedentaria (Rosenburg 1969, Goldberg *et al.* 1978, Farrington *et al.* 1983, Martin 1985, Patel *et al.* 1985). Actualmente existen programas de vigilancia costera de contaminación por metales pesados, radionúclidos y plaguicidas en varios países y hay propuestas de éstos a nivel mundial (The International Mussel Watch 1980). En América Latina se han iniciado investigaciones sobre el análisis de los metales pesados en algunos organismos, indicadores potenciales de la contaminación (Rosas *et al.* 1983, González *et al.* 1985, Ramírez *et al.* 1985, Vázquez-Botello y Páez 1986).

La espectroscopía de absorción atómica en sus distintas formas es uno de los métodos analíticos para metales pesados más utilizado y preferido actualmente (IAEA 1985a, 1985b, 1987). En el caso de utilizar técnicas de flama, para el análisis de muestras sólidas tales como tejidos de organismos marinos, se requiere de un tratamiento previo para transformar la muestra en formas químicas solubles. Este procedimiento, generalmente, involucra ataques con mezclas de ácidos a temperaturas altas y/o presiones elevadas.

Como parte de un estudio cuyo objetivo es conocer las variaciones en el contenido de metales pesados, considerando factores biológicos (talla y peso) y época del año, en esta primera etapa se pretenden evaluar las técnicas de extracción de metales pesados más utilizadas.

En este trabajo se discuten algunos factores que afectan la eficiencia de la extracción de los metales pesados haciendo énfasis en el tipo de mezcla ácida y la proporción tejido/ácido en cuatro especies de organismos filtradores de la región costera de Mazatlán: el ostión de mangle *Crassostrea corteziensis*, el mejillón *Mytella strigata* y las esponjas *Zygomycalce parishii* y *Sigmatocia caerulea*.

De acuerdo con la infraestructura disponible en nuestro laboratorio se seleccionaron los siguientes metales pesados: Cd, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn.

MATERIALES Y METODOS

En la Fig. 1 se presenta un mapa del área de estudio con las estaciones de colecta de los organismos. El ostión de mangle *C. corteziensis* y el mejillón *M. strigata*, se colectaron en las estaciones (E_3 — E_6) del Puerto y Antepuerto de Mazatlán en lo que se llama Estero de Urías, el cual tiene una superficie aproximada de 16 Km² y presenta características de una laguna costera, ya que la boca está permanentemente abierta y orientada casi paralelamente a la costa (Phleger 1969). Lankford (1977) clasifica a este cuerpo de agua como laguna costera Tipo III de plataforma interna con barrera.

Tomando en cuenta la abundancia y accesibilidad, las esponjas *Z. parishii* y *S. caerulea* se colectaron en dos estaciones localizadas fuera del Puerto. Una ubicada a la entrada del Puerto de Mazatlán (E_1) en donde la profundidad promedio es de 4 m y el sustrato es rocoso, aparentemente influenciada por descargas urbanas, portuarias e industriales que son vertidas en el Puerto y Antepuerto de Mazatlán. La otra estación (E_2) se localiza en la Bahía de Mazatlán en la parte Este de Isla de Lobos, sus fondos tienen un sustrato rocoso-arenoso y la columna de agua promedio es de 3 m.

En este estudio se utilizaron muestras homogeneizadas de tejidos colectados en varios períodos de muestreo: para el ostión de mangle y el mejillón se preparó una muestra homogeneizada para cada especie con los organismos colectados de los cuatro sitios (E_3 — E_6) del Puerto y Antepuerto de Mazatlán de los meses de enero, marzo y mayo de 1987; y para las esponjas se preparó un homogeneizado de las dos especies con los fragmentos colectados en septiembre y octubre de 1986 y en enero de 1987, en ambas estaciones. En cada uno de los casos la muestra homogeneizada consistió de una mezcla compuesta de partes iguales de tejido de cada muestreo mensual, dicha mezcla fue homogeneizada después de que cada componente como grupo de 20 individuos (o fragmentos de especímenes en las esponjas) fue secado ($90 \pm 10^\circ\text{C}$), molido en mortero de teflón y tamizado por una malla de nylon de 0.2 mm.

La razón de utilizar muestras homogeneizadas se debe a que éstas son más representativas en el sentido del número de individuos (20) y de las posibles diferencias que se pudieran presentar mes a mes en la matriz que influye en los resultados analíticos.

Todo el material empleado en el manejo de muestras tanto en el laboratorio como en el campo fue previamente lavado y enjuagado en ácidos clorhídrico y nítrico (Moody y Lindstrom 1977).

La ubicación de las estaciones donde se colectaron los bivalvos (*M. strigata* y *C. corteziensis*) se escogió considerando primero los lugares donde habitan estos organismos (ciertamente asociados a las raíces del manglar) y segundo tomando en cuenta las diferencias de cada una de las estaciones en lo referente a las actividades portuarias y pesqueras (Estaciones E_3 y E_4), presencia de aguas recalentadas por la termoeléctrica (E_5) y la aparente ausencia de toda actividad antropogénica (E_6).

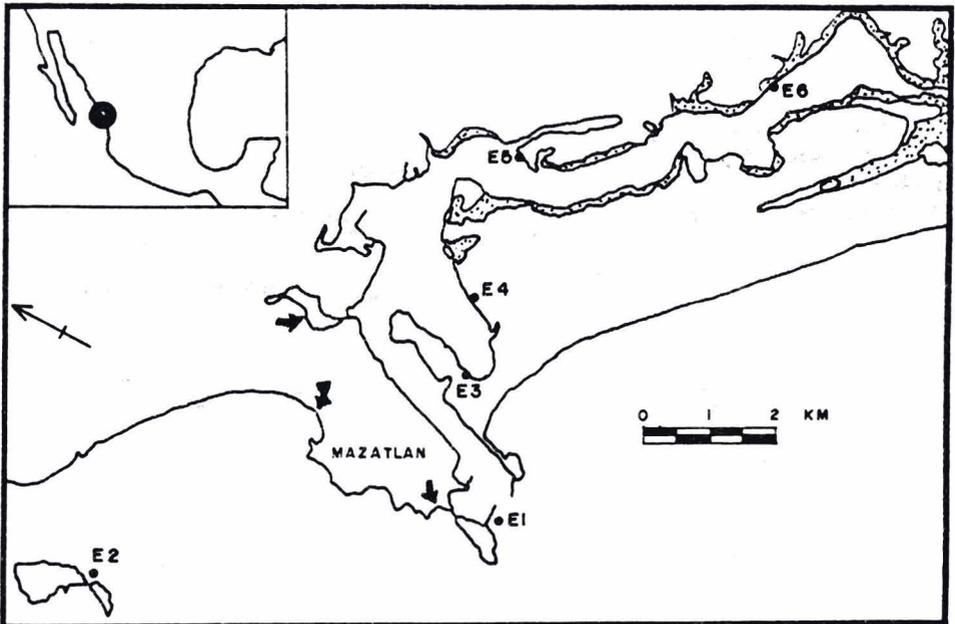


Fig. 1. Localización del área de estudio con la posición de las estaciones de muestreo (E)

En todas las pruebas el procedimiento de digestión consistió en añadir el ácido (o mezcla ácida) a una porción alícuota de la muestra homogeneizada aproximadamente de un gramo de tejido molido, la muestra se sometió a un baño sónico (20 min) para después calentarla hasta sequedad en un baño de arena a $120 \pm 10^\circ\text{C}$; posteriormente se agregó HNO_3 (1M) caliente para disolver a los metales en el digerido y éste se centrifugó (3000 rpm/30 min). El sobrenadante con los enjuagues una vez aforado, se llevó al espectrofotómetro de absorción atómica (Shimadzu AA 630-12) para leer la absorción por aspiración directa a la flama.

En la técnica de adición múltiple, los estándares fueron añadidos desde el inicio de la digestión, además se preparó también una curva de calibración con los estándares, tratándolos de manera similar que a las muestras (estándares digeridos) y se corrieron también los blancos respectivos en cada prueba.

Para la elección de la técnica de digestión se consideraron principalmente aquéllos reactivos que más se han utilizado y recomendado en la literatura: ácido nítrico concentrado (17M) (Stoeppler *et al.* 1979, Polprasert 1982, Rosas *et al.* 1983, Bargagli *et al.* 1985, Vasilikiotis *et al.* 1985, Vázquez-Botello y Páez 1986) y ácido nítrico (17 M) con peróxido de hidrógeno (Salanki *et al.* 1982, Dalziel y Baker 1983, Goldberg *et al.* 1983, González *et al.* 1985, De Rezende y de Lacerda 1986).

En este estudio se realizaron dos tipos de pruebas para los bivalvos: una digestión con HNO_3 concentrado añadiendo 12, 16, 20 y 24 ml por gramo de tejido seco y otra digestión con las mismas proporciones de ácido, pero añadiendo además 2 ml de H_2O_2 en cada caso.

A diferencia de la gran cantidad de literatura que existe para el análisis de metales pesados en bivalvos, en las esponjas hay sólo unos cuantos trabajos al respecto (Bowen y Sutton 1951, Patel *et al.* 1984, 1985) en los que se utilizan HNO_3 y H_2O_2 para digerirlas.

En este estudio se probaron tres formas distintas de ataques para las esponjas: una con 20 ml de HNO_3 concentrado por gramo de tejido; otra con 5, 10, 15 y 20 ml de HNO_3 y se añadió en cada caso 2 ml de H_2O_2 ; adicionalmente se probó también una digestión con 6 ml de HNO_3 , 6 ml de HF, 6 ml de HCl y 2 ml de H_2O_2 .

RESULTADOS Y DISCUSION

En las Tablas I y II se presentan los resultados de las distintas pruebas realizadas con los bivalvos *M. strigata* y *C. corteziensis*; en la primera tabla se muestran las concentraciones de Cu, Ni, Zn, Fe y Mn obtenidas utilizando diferentes proporciones de HNO_3 , con y sin H_2O_2 . Para el mejillón *M. strigata* se observa como los niveles de los cinco metales se mantienen relativamente constantes (dentro del orden de la desviación estándar) a pesar de añadir más ácido nítrico por gramo de tejido; en cambio si se comparan los niveles entre los metales con y sin la adición de H_2O_2 es posible notar diferencias significativas para el Ni y Zn; en este último elemento se extrae entre 13 y 49% más de metal con HNO_3 concentrado que con la presencia de H_2O_2 .

En la misma Tabla I se observa como el Cu, Ni y Zn, en el ostión *C. corteziensis*, tienden ligeramente a aumentar en su concentración con la adición de más HNO_3 ; cuando se comparan los niveles entre las concentraciones de metales con y sin la adi-

TABLA I. MEDIA \pm DESVIACION ESTANDAR DE LA CONCENTRACION DE METALES PESADOS ($\mu\text{g/g}$) EN *Mytella strigata** y *Crassostrea corteziensis** UTILIZANDO DIFERENTES PROPORCIONES DE HNO_3 , CON Y SIN H_2O_2 (ANALISIS POR TRIPLICADO)

METAL	<i>M. strigata</i> HNO ₃ añadido (ml/g)				<i>C. corteziensis</i> HNO ₃ añadido (ml/g)			
	12	16	20	24	12	16	20	24
Sin H ₂ O ₂								
Cu	17.1 \pm 2.0	15.8 \pm 1.2	16.3 \pm 1.3	14.0 \pm 0.6	136.2 \pm 2.1	130.4 \pm 5.1	133.9 \pm 7.6	138.2 \pm 1.6
Ni	9.6 \pm 0.2	9.8 \pm 1.0	9.5 \pm 0.4	5.7 \pm 0.8	3.0 \pm 0.4	1.8 \pm 0.6	2.3 \pm 1.2	3.4 \pm 1.2
Zn	67.2 \pm 0.9	59.9 \pm 2.9	60.8 \pm 2.1	52.2 \pm 2.7	1463 \pm 3	1491 \pm 32	1440 \pm 26	1496 \pm 11
Fe	41.4 \pm 3.7	39.7 \pm 1.0	46.8 \pm 1.4	46.5 \pm 1.5	141.9 \pm 2.0	141.3 \pm 2.8	138.4 \pm 1.9	143.7 \pm 1.5
Mn	37.8 \pm 0.2	38.1 \pm 0.4	38.7 \pm 0.4	38.5 \pm 0.3	13.8 \pm 0.2	14.4 \pm 0.2	14.3 \pm 0.4	14.6 \pm 0.1
Con 2 ml de H ₂ O ₂								
Cu	17.2 \pm 1.4	17.5 \pm 0.4	16.2 \pm 1.3	15.6 \pm 1.1	136.2 \pm 0.8	132.7 \pm 2.9	136.4 \pm 2.9	133.6 \pm 2.6
Ni	8.6 \pm 1.6	7.1 \pm 2.0	6.0 \pm 0.2	7.2 \pm 0.8	3.6 \pm 0.6	3.0 \pm 0.7	4.0 \pm 0.7	4.0 \pm 0.6
Zn	45.0 \pm 1.1	46.0 \pm 3.6	46.2 \pm 0.9	46.1 \pm 0.4	1171 \pm 4	1155 \pm 23	1176 \pm 11	1144 \pm 12
Fe	45.3 \pm 5.2	43.8 \pm 1.0	41.4 \pm 4.4	49.1 \pm 3.0	45.3 \pm 5.2	43.8 \pm 1.0	41.4 \pm 4.4	49.0 \pm 3.0
Mn	36.7 \pm 0.3	38.7 \pm 2.1	39.1 \pm 0.4	39.9 \pm 0.8	36.6 \pm 0.3	38.7 \pm 2.1	39.1 \pm 0.4	39.9 \pm 0.8

*Homogeneizado preparado con el muestreo solamente de enero de 1987

TABLA II. CONCENTRACION DE METALES PESADOS ($\mu\text{g/g}$) EN *Mytella strigata** y *Crassostrea corteziensis** CALCULADOS CON UNA CURVA DE CALIBRACION DE ESTANDARES SIN DIGERIR (A), DIGERIDOS (B) Y POR ADICION MULTIPLE DE ESTANDARES (C)

METAL	<i>M. strigata</i>			<i>C. corteziensis</i>		
	A	B	C	A	B	C
Cu	11.9	11.6	12.1	57.2	59.5	53.8
Ni	7.5	7.9	8.1	2.8	3.0	2.8
Cd	0.2	0.2	0.2	0.7	0.6	0.4
Co	2.5	2.4	2.0	1.1	1.1	0.7
Mn	32.7	31.3	31.0	32.7	31.3	12.3
Zn	46.2	67.7	26.0	1443	---	1068
Pb	9.6	---	11.7	4.8	6.8	1.8
Fe	498	---	---	202	---	---

*Homogeneizado preparado con los muestreos de enero, marzo y mayo de 1987

ción de H₂O₂, las diferencias son más notorias para Zn, Fe y Mn, presentando mayor concentración los dos primeros con el HNO₃ sin el H₂O₂, mientras que el Mn es al parecer más eficientemente (entendida ésta como la mayor concentración) extraído con la mezcla de HNO₃ y H₂O₂.

Después de seleccionar la técnica más efectiva, se procedió a cuantificar los niveles en las muestras homogeneizadas de tejido de cada una de las dos especies de bival-

vos de las muestras colectadas en enero, marzo y mayo de 1987. Para ello se utilizaron tres maneras distintas de calcular las concentraciones: 1) a partir de las muestras contra la curva patrón de estándares crudos o sin digerir, 2) utilizando una curva patrón de estándares digeridos y 3) por la técnica de adición múltiple de estándares.

El objeto de comparar estos tres métodos en cada especie, es para evaluar cual metal es factible de analizar contra una curva directa, de manera más rápida. En la Tabla II se tiene que los metales Cu, Ni, Cd, Pb y Mn del mejillón *M. strigata*, muestran valores similares (dentro de la precisión analítica) o idénticos, mientras que Zn y Co presentan considerable diferencia cuando se analizan contra una curva patrón o por adición múltiple de estándares. En el caso del ostión *C. corteziensis*, las diferencias son más marcadas, solamente Ni y Cu presentan niveles comparables entre las dos técnicas en esta especie, por lo que no es recomendable emplear una curva patrón en la cuantificación de los demás metales.

Con el objeto de comparar las concentraciones de metales en bivalvos, obtenidas en este estudio y en las de otras regiones, se elaboró la Tabla III. El cadmio es el elemento de concentración más baja en los dos bivalvos del Antepuerto de Mazatlán que en cualquier otra especie de otras áreas costeras; el resto de los metales se presentan en niveles comparables o inferiores. En el mejillón *M. strigata* el níquel es el único metal que posee niveles ligeramente superiores a los informados para el género *Mytillus* en áreas como el Mar de Irlanda (Segar *et al.* 1971), el Mar Mediterráneo (Fowler y Oregioni 1976) o Nueva Zelandia (Brooks y Rumsby 1965). Estas concentraciones probablemente reflejan la presencia antropogénica del metal en el Puerto de Mazatlán, lo cual puede provenir de las descargas de Petróleos Mexicanos, la Planta Termoelect-

TABLA III. CONCENTRACION DE METALES PESADOS ($\mu\text{g/g}$) PARA LOS BIVALVOS DE MAZATLAN Y OTRAS REGIONES COSTERAS

ORGANISMOS	Cd	Co	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Zn	LOCALIDAD
Ostión:									
<i>C. corteziensis</i>	0.4	0.7	53.8	202	12.3	2.8	1.8	1068	Mazatlán México (a)
<i>C. virginica</i>	7.1	-	-	-	-	-	3.0	-	Golfo de México (b)
<i>C. virginica</i>	3.7	-	220	-	-	4.2	0.5	4060	Costa Este EUA (c)
<i>C. gigas</i>	3.7	-	32	128	16	1.6	-	396	Estuario Knysna Sudáfrica (d)
Mejillón:									
<i>M. strigata</i>	0.2	2.2	12.1	498	31	8.1	11.7	26	Mazatlán México (a)
<i>M. edulis</i>	10	-	9	1960	27	7	12	31	Nueva Zelandia (e)
<i>M. edulis</i>	5.1	1.6	9.6	1700	3.5	3.7	9.1	91	Mar Irish G.B. (f)
<i>M. galloprovincialis</i>	1.9	2.8	18	443	21.1	4.3	21.5	209	Mar Mediterráneo Francia (g)

(a) Este estudio, (b) Rosas *et al.* 1983, (c) Goldberg *et al.* 1978, (d) Watling y Watling 1976, (e) Brooks y Rumsby 1965, (f) Segar *et al.* 1971, (g) Fowler y Oregioni 1976

trica y los derrames de combustibles de la flota camaronera. Los residuos de aceites derivados del petróleo contienen cantidades importantes de metales pesados, de tal forma que la contaminación por petróleo ha sido detectada incluso mediante el análisis de vanadio y níquel en los sedimentos (Ramondetta y Harris 1976, Khalaf *et al.* 1982).

En la Tabla IV se muestran los resultados analíticos para Cu, Ni y Co en las diferentes pruebas de las esponjas homogeneizadas *Z. parishii* y *S. caerulea*. Co y Ni se extraen más eficientemente con HNO₃ y H₂O₂, mientras que en el Cu los niveles obtenidos con la mezcla ácida de HNO₃, HF, HCl y H₂O₂ son dos veces más elevados que con cualquiera otra de las digestiones. Sin embargo, esta última técnica se descartó ya que los blancos de reactivos presentaron valores relativamente altos y la precisión (para un replicado de 6 muestras) da un error considerable de 17.4%.

TABLA IV. MEDIA \pm DESVIACION ESTANDAR DE LA CONCENTRACION DE Cu, Ni y Co ($\mu\text{g/g}$) EN EL HOMOGENEIZADO DE LAS ESPONJAS *Zygomycete parishii* y *Sigmadocia caerulea* UTILIZANDO DIFERENTES MEZCLAS DE DIGESTION

MEZCLA DE DIGESTION (ml/g)	Cu	Ni	Co
(a) 5 ml HNO ₃ /2 ml H ₂ O ₂	11.8 \pm 0.8	28.0 \pm 1.3	13.3 \pm 1.4
(b) 10 ml HNO ₃ /2 ml H ₂ O ₂	12.0 \pm 2.0	27.4 \pm 1.5	14.1 \pm 1.7
(c) 15 ml HNO ₃ /2 ml H ₂ O ₂	11.9 \pm 0.4	28.2 \pm 0.9	12.5 \pm 2.6
(d) 20 ml HNO ₃ /2 ml H ₂ O ₂	11.4 \pm 0.3	27.8 \pm 0.9	12.9 \pm 1.5
(e) 20 ml HNO ₃	10.1 \pm 0.9	24.5 \pm 1.8	10.8 \pm 2.7
(f) 6 ml HNO ₃ /6 ml Hf/6 HCl/2 ml H ₂ O ₂	30.5 \pm 5.3	27.6 \pm 0.5	12.5 \pm 2.1

En la Tabla V se presentan las concentraciones de ocho metales en las esponjas homogeneizadas (calculadas con una curva de calibración de estándares digeridos y la técnica de adición múltiple de estándares) y los niveles encontrados por Patel y colaboradores (1985) en varias especies de esponjas de la costa hindú. Las diferencias entre

TABLA V. CONCENTRACION DE METALES PESADOS ($\mu\text{g/g}$) EN EL HOMOGENEIZADO DE LAS ESPONJAS *Zygomycete parishii* y *Sigmadocia caerulea* CALCULADA CON UNA CURVA DE CALIBRACION DE ESTANDARES DIGERIDOS Y LA TECNICA DE ADICION MULTIPLE DE ESTANDARES

METAL	CURVA DE CALIBRACION	ADICION DE ESTANDARES	ESPECIES DE LA COSTA HINDU (a)
Cu	6.0 \pm 0.7 (b)	5.5	ND-25
Ni	11.7 \pm 1.1	9.6	ND-2250
Co	7.1 \pm 0.7	5.5	3-50
Cd	1.3 \pm 0.1	1.1	ND-225
Mn	14.2 \pm 1.0	15.0	ND-105
Fe	429 \pm 28	2018	225-3250
Zn	51.1 \pm 5.2	90.6	50-575
Cr	3.5 \pm 1.5	5.9	ND-2000

(a) Patel *et al.* (1985)

(b) La desviación estándar se realizó con un replicado de 6 muestras y se presenta como una medida de la reproducibilidad o precisión de la técnica.

las dos técnicas en las esponjas de Mazatlán son evidentes, sobre todo para el Fe, Cr y Zn, por lo que el análisis de estos metales es necesario realizarlo por la técnica de adición múltiple de estándares.

Con relación a las esponjas de la costa hindú, la mayoría de los niveles encontrados en este estudio son cercanos al límite inferior del intervalo descrito.

De la anterior discusión es posible concluir lo siguiente:

Que la proporción ácido/tejido y la composición de la mezcla ácida utilizada en la digestión tienen un efecto importante en la extracción de los metales pesados. Que los niveles de metales encontrados en este estudio tanto en los dos bivalvos (*M. strigata* y *C. corteziensis*) como en las esponjas (*Z. parishii* y *S. caerulea*) corresponden a los niveles básicos naturales de estas cuatro especies filtradoras, con la excepción probable del Ni en el mejillón del Antepuerto de Mazatlán.

AGRADECIMIENTOS

A los Biólogos Luis M. Flores Campaña y Raúl Pérez González por su colaboración en la colecta de los bivalvos. Al Químico Humberto Bojórquez Leyva por su participación en los análisis efectuados. Este trabajo fue apoyado parcialmente por la Coordinación General de Investigación y Posgrado de la Universidad Autónoma de Sinaloa y la Dirección General de Investigación Científica y Superación Académica de la Secretaría de Educación Pública (Proyecto 860658; convenio 86010128).

REFERENCIAS

- Bargagli R., Baldi F. y Leonzio C. (1985). Trace metal assessment in sediment, molluscs and Reed Leaves in the Bay of Follonica (Italy). *Mar. Environ. Res.* 16, 281-300.
- Brooks R. R. y Rumsby M. G. (1965). The biochemistry of trace element uptake by some New Zealand bivalves. *Limnol. Oceanogr.* 10, 521-527.
- Bowen V. T. y Sutton D. (1951). Comparative studies of mineral constituents of marine sponges. *J. Mar. Res.* 10, 153-167.
- Dalziel J. y Baker C. (1983). Métodos analíticos para medir la presencia de metales mediante espectrofotometría de absorción atómica. *En: Manual de Métodos de Investigación del Medio Ambiente Acuático*. Documentos Técnicos de Pesca No. 212. FAO, 15-22.
- De Rezende C. E. y De Lacerda L. D. (1986). Metais pesados em mexilhões (*Perna perna* L.) no litoral do estado do Rio de Janeiro. *Rev. Brasil Biol.* 46, 239-247.
- Farrington J. W., Goldberg E. D., Risebrough R. W., Martin J. H. y Bowen V. T. (1983). U. S. "Mussel Watch" 1976-1978: an overview of the trace metal, DDE, PCB, hydrocarbon and artificial radionuclide data. *Environ. Sci. Technol.* 17, 490-496.
- Fowler S. W. y Oregioni B. (1976). Trace metals in mussels from the N. W. Mediterranean. *Mar. Pollut. Bull.* 7, 26-29.
- Goldberg E. D., Bowen V. T., Farrington J. W., Harvey G., Martin J. H., Parker P. L., Risebrough R. W., Robertson W. Shneider E. y Gamble E. (1978). The mussel watch. *Environ. Conservat.* 5, 101-125.
- _____, Koide M., Hodge V., Russel A. F. y Martin J. (1983). U. S. "Mussel Watch" 1977-1978: results on trace metals and radionuclides. *East Coast Shelf Sci.* 16, 69-93.
- González H., Ramírez M. y Portuondo Y. (1985). Heavy metals in molluscs and sediments in the litoral of Havana Bay Cuba. *En: Heavy metals in the environment* (T. D. Lekkas, Ed.). International Conference. Vol. 1, 658-660.

- International Atomic Energy Agency (1985a). Intercomparison of trace element measurements in marine sediment sample SD-N-1/2. Report No. 24, 74 p.
- (1985b). Intercalibration of analytical methods on marine environmental samples: trace element measurements on mussel homogenate. Report No. 26, 104 p.
- (1987). Intercalibration of analytical methods on marine environmental samples: trace element measurements on shrimp homogenate. Progress Report No. 34, 27 p.
- Khalaf F., Literathy P. y Aderlini V. (1982). Vanadium as a tracer of oil pollution in sediments of Kuwait. *Hydrobiol.* 91, 147-154.
- Lankford R. R. (1977). Coastal lagoons of Mexico, their origin and classification. En: *Estuarine Processes* (M. Wiley, Ed.). Academic Press, Nueva York. 11, 183-215.
- Louma S. N., Cain D. y Johansson C. (1985). Temporal fluctuations of silver, copper and zinc in the bivalve *Macoma balthica* at five stations in south San Francisco Bay. *Hidrobiol.* 129, 109-120.
- Moody J. R. y Lindstrom R. M. (1977). Selection and cleaning of plastic containers for storage of trace element samples. *Anal. Chem.* 49, 2264-2267.
- Patel B., Patel S. y Taylor D. M. (1984). The chemical form of cobalt-60 in the marine sponge *Sprastrella euspidifera*. *Mar. Biol.* 80, 45-48.
- , Balani M. C. y Patel S. (1985). Sponge "sentinel" of heavy metals. *Sci. Total Environ.* 41, 143-152.
- Phleger F. B. (1969). Some general features of coastal lagoons. En: *Lagunas costeras, un simposio* (A. Ayala-Castañares y F. B. Phleger, Eds.), México 5-26.
- Polprasert C. (1982). Heavy metal pollution in the Chao Phraya River Estuary, Thailand. *Water Res.* 16, 775-784.
- Ramírez M., Areces A. y González H. (1985). Trace metal concentrations in seaweeds of Cuban's shores. En: *Heavy metals in the environment* (T. D. Lekkas, Ed.). International Conference, Vol. 2, 271-273.
- Ramondetta P. J. y Harris W. H. (1976). Heavy metal distribution in Jamaica Bay sediments. *Environ. Geol.* 2, 145-149.
- Roosenburg W. H. (1969). Greening and copper accumulation in the American oyster, *Crassostrea virginica*, in the vicinity of a steam electric generating station. *Chesapeake Sci.* 10, 241-252.
- Rosas I., Báez A. y Belmont R. (1983). Oyster *Crassostrea virginica* as indicator of heavy metal pollution in some lagoons of the Gulf of Mexico. *Water, Air, Soil, Pollut.* 20, 127-135.
- Salanki J., Balogh K. V. y Berta E. (1982). Heavy metals in animals of Lake Balaton. *Water Res.* 16, 1147-1152.
- Segar D. A., Collins J. D. y Riley J. P. (1971). The distribution of major and some minor elements in marine animals. II Molluscs. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* 51, 131-136.
- Stoeppler M., Müller K. P. y Backhaus F. (1979). Pretreatment studies with biological and environmental materials. *Fresenius Z. Anal. Chem.* 297, 107-112.
- The International Mussel Watch (1980). *Report of a workshop sponsored by the environmental studies board commission on natural resources*. National Research Council, National Academy of Sciences. Washington D. C. 248 p.
- Vasilikiotis G., Fytianos K. y Zoutou A. (1983). Heavy metals in marine organisms of the north Aegean Sea, Greece. *Chemosphere* 12, 75-81.
- Vázquez-Botello A. y Páez F. (1986). *El problema crucial: la contaminación*. Centro de Ecodesarrollo, México, 180 p.
- Watling H. R. y Watling R. J. (1976). Trace metals in oysters from Knysna Estuary. *Mar. Pollut. Bull.* 7, 45-48.