

CINÉTICA DE BIOACUMULACIÓN DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN *Anadara similis* (ADAMS, 1852) Y *Anadara tuberculosa* (SOWERBY, 1833) (ARCOIDA: ARCIDAE)

KINETICS OF BIOACCUMULATION OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS IN *Anadara similis* (ADAMS, 1852) AND *Anadara tuberculosa* (SOWERBY, 1833) (ARCOIDA: ARCIDAE)

Mónica Zambrano^{1*}, Robinson Casanova^{2*}, Gustavo Arencibia³, Alexis Vidal⁴, Norberto Capetillo⁵

¹Estudiante de Doctorado en Ciencias Biológicas. Centro de Investigaciones Marinas CIM. Universidad de la Habana. La Habana. Cuba. monyazambrano@yahoo.com; ²Magister Gestión e Ingeniería Ambiental. Jefe Laboratorio de Química. *Grupo de Protección del Medio Marino. Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas del Pacífico Cccp, Tumaco Colombia. rcasanova@dimar.mil.co; ³Doctor en Ciencias en el Uso, Manejo y Preservación de los Recursos. Centro de Investigaciones Pesqueras CIP. La Habana, Cuba. garen04@gmail.com; ⁴Doctor en Ciencias Farmacéuticas. Profesor Titular. Grupo de Farmacología-Toxicología, Facultad de Biología, Universidad de La Habana. La Habana, Cuba. alexis.vidal@infomed.sld.cu; ⁵Magister en Biología Marina y Acuicultura. Estudiante Doctorado Ciencias Marinas, Depto de Pesquería y Biología Marina, La Paz, Baja California Sur, México, norbertcap@yahoo.com

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 15(2): 291 - 302, 2012

RESUMEN

Se determinó la bioacumulación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) en las los moluscos bivalvos *Anadara similis* y *A. tuberculosa*, siendo esta última especie empleada como organismo biomonitor, en el Pacífico colombiano. Un total de 120 organismos de cada especie fueron expuestos a una mezcla de los 16 HAP considerados contaminantes prioritarios, por la Environmental Protection Agency (US EPA), suministrados a concentraciones establecidas a partir de niveles considerados seguros para la vida acuática. Los organismos fueron expuestos a una concentración de 15,48ng/mL de la mezcla de HAP, por un periodo de 45 días, para *A. tuberculosa* y 30, para *A. similis*; la prueba con esta última especie tuvo menor duración, debido a la mortalidad registrada durante el ensayo, la cual, se asocia con la duración del periodo de aclimatación, que abarcó 10 días. Los máximos niveles de acumulación registrados en *A. tuberculosa* ($48,00 \times 10^2$ ng/g) y *A. similis* ($75,00 \times 10^2$ ng/g), se presentaron luego de 30 y 25 días de exposición, respectivamente, evidenciándose una mayor capacidad de bioacumulación por parte de *A. similis* y, por ende, un alto potencial de la misma, como organismo biomonitor de las condiciones ambientales.

Palabras clave: Bioacumulación, Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP), Bivalvos.

SUMMARY

The bioaccumulation of aromatic polycyclic hydrocarbons (PAH`s) in the bivalve mollusk *Anadara similis* and *A. tuberculosa*, was determined, being the latter species used as bio-monitor organism in the Colombian Pacific. A total of 120 organisms of each species were exposed to a mixture of 16 APH considered priority pollutants to the Environmental Protection Agency (US EPA), supplied to established concentrations from levels considered safety to the aquatic life. The organisms were exposed to concentrations of 15.48ng/mL of PAH's mixture for a period of 45 days to *A. tuberculosa* and 30 days to *A. similis*, the test with the latter species had less duration due to the mortality registered during the test, associated with the acclimatization period that included 10 days. The highest accumulation levels registered in *A. tuberculosa* (48.00×10^2 ng/g) and *A. similis* (75.00×10^2 ng/g) were detected, respectively, after 30 and 25 days of exhibition, demonstrating a major bioaccumulation

capacity of *A. similis* and for therefore a high potential of this organism as bio-monitor of the environmental conditions.

Key words: Bioaccumulation, Aromatic Polycyclic Hydrocarbons (HAP), Bivalves.

INTRODUCCIÓN

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) son constituyentes naturales del petróleo crudo y conforman una fracción de hasta el 20% del total de hidrocarburos, siendo, a la vez, el grupo potencialmente más tóxico (Eisler, 2000). Se conocen aproximadamente 100HAP en el aire, en el suelo, en los alimentos y en el agua (Zedeck, 1980); sin embargo, solo 16 son considerados de interés en función de sus aplicaciones industriales y como contaminantes ambientales tóxicos, por la EPA (Achten & Hofmann, 2009; Rey-Salgueiro *et al.* 2009), la ATSDR (2011) y la IARC (1983), fundamentalmente, por sus efectos mutagénicos y cancerígenos (Potin *et al.* 2004). Estos compuestos, se encuentran entre los más comunes contaminantes orgánicos persistentes en ambientes acuáticos (Nesto *et al.* 2010), que causan efectos biológicos a largo plazo y su toxicidad sobre organismos acuáticos, se incrementa con la exposición a la radiación solar y por la por fotoactivación de las moléculas (Pelletier *et al.* 2006; Bellas *et al.* 2008; Okay & Karacik, 2008).

Para realizar estudios de seguimiento a este tipo de contaminantes en ambientes acuáticos se ha recurrido al uso de bivalvos, como organismos biomonitores (Page *et al.* 2005; Chęć *et al.* 2008), considerando al mejillón entre los mejores centinelas en el seguimiento de la contaminación marina, por ser organismos sedentarios, filtradores y por poseer una limitada capacidad de metabolización (Soriano-Sanz *et al.* 2006); sin embargo, en el Pacífico colombiano su presencia es escasa, situación que generó la necesidad de seleccionar una especie representativa de la zona.

En Colombia, las especies de moluscos bivalvos *Anadara similis* y *A. tuberculosa*, conocidas comúnmente como Piangua, son ampliamente explotadas y cuentan con una alta demanda en el mercado, por ende, son de gran interés comercial, llegando a constituir el 96% de la producción total de bivalvos del país (INCODER, 2007). Ambas especies habitan en el ecosistema de manglar, en especial, entre las raíces de mangle rojo (*Rhizophora mangle*), siendo *A. tuberculosa* más abundante, razón por la que sobre la misma, se realiza un importante esfuerzo de captura, que la ha llevado a ser catalogada como especie vulnerable (Ardila *et al.* 2002). Si bien *A. similis* no se encuentra catalogada dentro de este grupo es extraída de manera simultánea durante las faenas de recolección y teniendo en cuenta su

menor abundancia es muy factible que se encuentre bajo las mismas condiciones de vulnerabilidad.

Debido a la importancia comercial con que cuentan ambas especies y, en particular *A. tuberculosa*, su amplia distribución en el Pacífico colombiano y su condición de organismo sésil y filtrador, ha sido utilizada para predecir exposición, efectos y susceptibilidad ante la presencia de sustancias antropogénicas (Sericano *et al.* 1995); en Colombia (Marrugo, 1993; Casanova, 1995; Calero & Zambrano, 1997; Velásquez López & Cortes, 1997) y en diversos países de la región (De la Cruz, 1994; Lauenstein, 1995; Sericano *et al.* 1995; Beliaeff *et al.* 1997; Herrero *et al.* 1999).

Teniendo en cuenta lo anterior, en el presente estudio, se evaluó la capacidad de bioacumulación de ambas especies al ser expuestas a una mezcla de 16 HAP, comparando las respuestas presentadas entre ellas, bajo las mismas condiciones experimentales. Así mismo, se realizó un seguimiento al comportamiento de incorporación y de depuración de los compuestos, lo que permitirá, adicionalmente, determinar periodos de cuarentena, en caso de eventos de contaminación asociados a hidrocarburos, tendientes a proteger la salud de los consumidores.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los organismos de ensayo, se recolectaron en la Bahía de Tumaco, en el Pacífico colombiano, cuyas coordenadas corresponden a los 1°53'10" N y 78°39'50" W (Figura 1) y fueron adquiridos a través de pescadores artesanales, trasladados al laboratorio del Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas del Pacífico – CCCP, en donde fueron sometidos a un periodo de aclimatación en tanques de 250L.

La duración de este periodo abarcó 10 días, con el fin que los organismos no solamente se adaptaran a las condiciones de laboratorio, sino que también depuraran los niveles de compuestos de alto peso molecular (PM), que pudieran haber acumulado en el medio antes de la captura, pues estos compuestos tienen una mayor persistencia con respecto a los de bajo y medio PM. Este periodo, se determinó teniendo como referencia el hecho que los bivalvos marinos utilizados en pruebas similares requieren de dos días de depuración (APHA, AWWA, WEF, 2005).

El agua marina usada para el desarrollo de los experimentos fue tomada de un área alejada a las instalaciones del CCCP (Figura 1), durante los periodos de marea alta, empleando una motobomba que la impulsaba hacia unos tanques de almacenamiento, pasando, posteriormente, a través de un filtro para su uso en las pruebas.

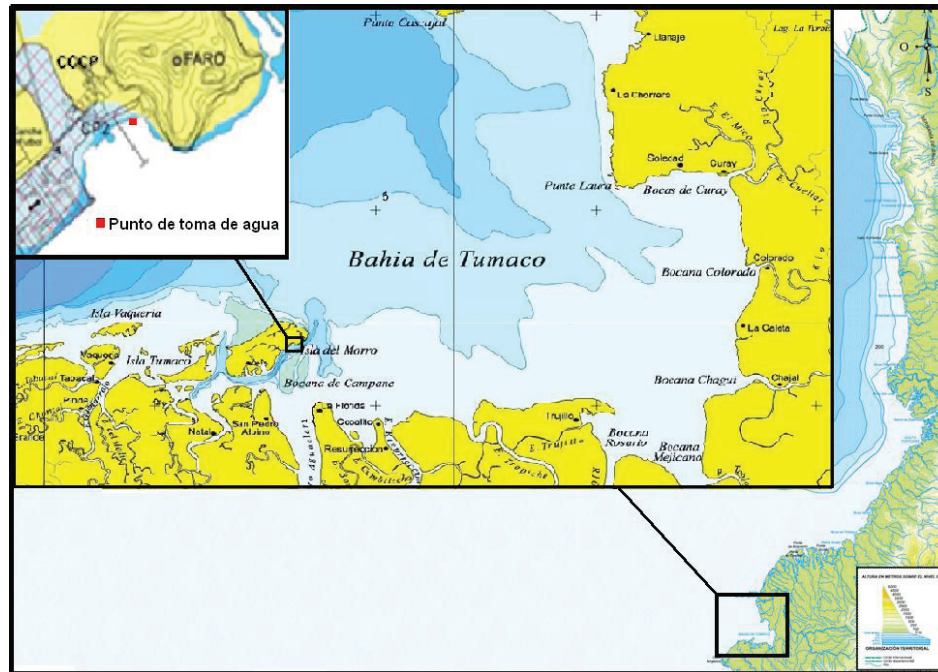


Figura 1. Bahía de Tumaco.

Las pruebas realizadas fueron de tipo semiestático, con recambios del 100% del volumen de agua (20L), cada 24 horas, en todos los recipientes: los dos tipos de control (agua marina filtrada y con adición de acetona) y, en los recipientes de ensayo, con la solución. No se realizó suministro de aireación durante las pruebas, por lo que el agua de recambio se sometía previamente a varias horas de aireación, con el fin de saturar de oxígeno disuelto (OD).

Los controles empleados consistían en mantener un grupo de organismos en los recipientes de ensayo en agua marina, pero sin adición de la solución (mezcla de HAP), por lo que se tenía un control con solo agua de disolución (agua marina filtrada) y otro al que adicionalmente se añadía el solvente (acetona), con un volumen igual al empleado en la adición del compuesto (15mL); en ambos casos, se trabajaron por triplicado.

Como recipientes de ensayo, se utilizaron acuarios de vidrio aforados a 20,0L y, en cada uno de ellos, se expusieron un total de 10 organismos. La prueba consistió en exponer 120 organismos de cada especie (*A. similis* y *A. tuberculosa*) a una mezcla de los 16 HAP, alcanzando una concentración de 15,48ng/mL en los recipientes de ensayo. Culminado el periodo de aclimatación, se tomó una muestra de 10 organismos, para determinar los niveles de los compuestos a evaluar que pudieran presentar los organismos.

Las concentraciones establecidas para cada compuesto en la mezcla equivalen a los niveles guía de calidad del

Canadian Council of Ministers of the Environment (CCME, 2010), los cuales, no representan riesgo para la vida acuática (estos niveles solamente se encuentran estipulados para ecosistemas dulceacuícolas). Para los compuestos que no cuentan con un nivel de referencia, se estableció una concentración inferior a la estipulada para el antraceno, que cuenta con la mayor restricción entre los compuestos que pertenecen a este grupo dentro de la guía.

La mezcla de HAP requirió la preparación de tres soluciones patrón (de acuerdo a la similitud en la concentración requerida para cada compuesto), empleando acetona como solvente, que fueron adicionadas en diferentes alícuotas, con el fin de obtener las concentraciones estipuladas para adelantar la prueba, obteniendo una concentración final de 15,48 ng/mL (de los 16 analitos), requerida en los recipientes de ensayo. La composición de la mezcla al igual que las características fisicoquímicas de cada compuesto, se presenta en la tabla 1.

Diariamente, se registraron parámetros fisicoquímicos, tales como: salinidad, pH, temperatura y OD, empleando un multiparámetros WTW Multi 340i. Así mismo, se proporcionó alimento a los organismos, suministrando 1,0L de diatomeas (con una densidad promedio de 3×10^6 células/mL) en cada recipiente de ensayo, tras realizar el recambio. Las diatomeas, se cultivaron en el laboratorio, a partir de células obtenidas tras filtrar agua marina en la zona de la que se abastecía el laboratorio.

Tabla 1. Composición de la mezcla de HAP utilizada en las pruebas de toxicidad (ng/g) y características fisicoquímicas de los compuestos de ensayo.

Compuesto	Concentración de ensayo (ng/mL)	Directrices* (ng/mL)wz	PM g/mol	PF °C	S a 25°C mg/L	LogK _{ow}	H	D cm ² /s	PE °C	VM Cm ³ /mol	F a 25°C	P ^s a 25°C (mPa)
Naftaleno	1,1	1,1	128,16	80,5	31,7	3,5	43,01	7,5x10 ⁻⁶	218	148	0,2830	11960
Acenafileno	5,0		152,20	95	3,93	4,0		7,5x10 ⁻⁶	270			0,89
Acenafeno	5,8	5,8	154,21	95	3,93	4,33	12,17	7,6 x10 ⁻⁶	277	173	0,1980	594
Fluoreno	3,0	3,0	166,00	116,5	1,98	4,18	7,87	7,8x10 ⁻⁶	295	188	0,1260	94,7
Fenantreno	0,4	0,4	178,24	101	1,29	4,5	3,24	7,4x10 ⁻⁶	339	199	0,1770	90,7
Antraceno	1,2 x 10 ⁻²	0,012	178,24	216	0,045	4,5	3,96	7,7x10 ⁻⁶	340	197	0,0129	25
Fluoranteno	0,4 x 10 ⁻¹	0,04	202,26	111	0,26	5,1	1,03	6,3x10 ⁻⁶	375	217	0,1410	1328
Pireno	2,5 x 10 ⁻²	0,025	202,26	156	0,135	4,9	0,92	7,2x10 ⁻⁶	360	214	0,0506	91,3 x 10 ⁶
Benzo[a]antraceno	1,8 x 10 ⁻²	0,018	228,00	162	0,0057	5,6	0,58	9x10 ⁻⁶	435	248	0,0462	14,7x10 ⁻³
Criseno	2,5 x 10 ⁻²		228,30	255	0,0018	1,64	5,86	6,2x10 ⁻⁶	448	179	0,0053	
Benzo[k]fluoranteno	0,1 x 10 ⁻¹		252,32	217	0,0043	6,06	0,016	5,5x10 ⁻⁶	481	268	0,0126	2,8x10 ⁻⁹
Benzo[a]pireno	1,5 x 10 ⁻²	0,015	252,32	179	0,0038	6,0	0,046	9,0x10 ⁻⁶	495	263	0,0328	0,37x10 ⁻⁶
Benzo[b]fluoranteno	0,1 x 10 ⁻¹		252,32	168	0,014	6,06		5,5x10 ⁻⁶	481	268	0,0385	13x10 ³ -0,133 a20°C
Indeno [1,2,3-cd]pireno	0,5 x 10 ⁻²		276,00	164	5,3x10 ⁻⁴	6,40		4,4x10 ⁻⁶				1,3x10 ⁻⁵
Benzo[ghi]perileno	0,1 x 10 ⁻¹		276,34	277	2,6x10 ⁻⁴	6,50	0,075	5,6x10 ⁻⁶	525	277	0,0032	
Dibenzo[ah]antraceno	0,1 x 10 ⁻¹		278,36	270	0,0006	6,75		5,2x10 ⁻⁶	524	300	0,0040	

Fuente: *Canadian Council of Ministers of the Environment (CCME), 2010. Peña et al. 2003.

PM: Peso molecular; PF: Punto de fusión; PE: Punto de ebullición; V^m: Volumen molar; F: Proporción de fugacidad; P^s: Presión de vapor; S: Solubilidad; LogK_{ow}: Coeficiente de partición octanol/agua; H: Constante de la ley de Henry; D: Coeficiente de difusión en agua.

La duración de los ensayos, se determinó teniendo en cuenta que para pruebas de bioacumulación en campo, la exposición abarca 30 días o más para evaluar concentraciones de contaminantes en tejidos; si los compuestos son debajo PM, este periodo puede ser inferior, pero para compuestos orgánicos de alto PM, se puede prolongar la prueba a 60 o 90 días (APHA, AWWA, WEF, 2005).

La talla media de los organismos de ensayo fue de 4,88cm de longitud total (LT), para *A. tuberculosa* y, de 4,48cm, para *A. similis*. La determinación de los niveles de HAP incorporados, se realizó con periodicidad de cinco días, tomando 10 organismos como muestra, extrayendo el tejido de los mismos y homogenizándolo, para realizar el análisis respectivo (a partir de ± 10 g de muestra).

La determinación de los HAP, se realizó por cromatografía de gases, acoplada a espectrometría de masas (CG/EM), siguiendo las metodologías descritas por Russell *et al.* (2002), utilizando un cromatógrafo de gases (Agilent Technologies 6890N), acoplado a un detector selectivo de masas (MSD – 7683B Series); bajo el método de monitoreo de ion selectivo (SIM), empleando estándares de marca Supelco, de alta pureza analítica, para su determinación y su cuantificación.

Con el propósito de evaluar el desempeño analítico del método, se participó regularmente en pruebas interlaboratorio, con el Laboratorio Ambiental Marino (MEL) de la Agencia Internacional de Energía Atómica (IAEA), obteniendo resultados satisfactorios.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los parámetros fisicoquímicos presentaron valores entre los 23,30 y 25,70°C, para la temperatura; de 7,91 a 8,24, para el pH; entre 29,30 y 30,00 psu, para la salinidad y entre 3,25 y 7,80mg O₂/L, para OD. Estos niveles son adecuados para la supervivencia de ambas especies, teniendo en cuenta que habitan en zonas fangosas en las que se presentan cambios bruscos en los diferentes parámetros fisicoquímicos, causados por los cambios mareales (Prahl *et al.* 1990).

Durante el periodo de aclimatación no se registró mortalidad y, al término de este lapso, la concentración de los HAP totales presentó niveles de 143,50ng/g, en organismos de la especie *A. tuberculosa* (Tabla 2) y de 22,00ng/g, en *A. similis* (Tabla 3).

A lo largo de la prueba ninguna de las dos especies presentó incorporación de naftaleno ni de fluoranteno; esto obedece a que el naftaleno es el compuesto de menor PM entre los HAP y la tendencia en este grupo de compuestos es que se incrementa la volatilidad al disminuir el PM (CCME, 2010), lo que hace del naftaleno el compuesto con mayor volatilidad entre los HAP. Adicionalmente, la no incorporación de estos compuestos, también se puede relacionar con la baja concentración suministrada durante la prueba.

Este comportamiento es similar al registrado por algunos compuestos en mejillones expuestos a la fracción acomodada del crudo del Prestige, en el que se presentó una

Tabla 2. Concentración de HAP en *Anadara tuberculosa* durante la prueba de bioacumulación (ng/g - peso seco).

Tiempo (días) Compuesto	CONCENTRACIÓN									
	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45
Antraceno	20,0	102,0	220,0	114,0	193,0	112,0	294,0	155,0	190,0	195,0
Pireno	25,0	67,0	185,0	90,0	130,0	100,0	165,0	90,0	150,0	100,0
Benzo[k]fluoranteno	1,6	57,0	110,0	114,0	163,0	122,0	172,0	226,0	100,0	130,0
Benzo[ghi]perileno	1,7	40,0	140,0	120,0	118,0	110,0	216,0	155,0	110,0	130,0
Benzo[a]pireno	4,7	32,0	85,0	69,0	130,0	75,0	153,0	142,0	75,0	950,0
Benzo[b]fluoranteno	4,3	47,0	110,0	109,0	147,0	118,0	170,0	240,0	110,0	140,0
Benzo[a]antraceno	1,7	54,0	100,0	87,0	160,0	100,0	148,0	175,0	98,0	120,0
Indeno[1,2,3-cd]pireno	19,0	65,0	100,0	205,0	250,0	173,0	308,0	346,0	145,0	224,0
Dibenzo[ah]antraceno	11,0	40,0	137,0	107,0	110,0	96,0	220,0	168,0	113,0	140,0
Fluoranteno	< L.D	< L.D	< L.D	< L.D	< L.D	< L.D	< L.D	< L.D	< L.D	< L.D
Criseno	0,5	102,0	140,0	161,0	270,0	173,0	250,0	332,0	150,0	210,0
Naftaleno	< L.D	< L.D	< L.D	< L.D	< L.D	< L.D	< L.D	< L.D	< L.D	< L.D
Acenaftileno	15,0	313,0	200,0	564,0	590,0	364,0	370,0	540,0	530,0	610,0
Acenafteno	13,0	757,0	347,0	1236,0	1210,0	838,0	790,0	1156,0	1070,0	1290,0
Fluoreno	14,0	440,0	480,0	575,0	630,0	506,0	704,0	637,0	610,0	730,0
Fenantreno	12,0	320,0	510,0	360,0	410,0	350,0	600,0	440,0	420,0	520,0
Sumatoria HAP	143,5	2436,0	2864,0	3911,0	4511,0	3237,0	4560,0	4802,0	3871,0	5489,0

< L.D: Menor al límite de detección.

Tabla 3. Concentración de HAP en *Anadara similis* durante la prueba de bioacumulación (ng/g - peso seco).

Tiempo (días) Compuesto	CONCENTRACIÓN						
	0	5	10	15	20	25	30
Antraceno	0,7	114,0	114,0	145,0	280,0	375,0	194,0
Pireno	8,7	50,0	180,0	204,0	166,0	340,0	220,0
Benzo[k]fluoranteno	< L.D	130,0	93,0	122,0	40,0	120,0	166,0
Benzo[ghi]perileno	< L.D	84,0	55,0	64,0	90,0	80,0	100,0
Benzo[a]pireno	< L.D	68,0	46,0	56,0	27,0	94,0	90,0
Benzo[b]fluoranteno	< L.D	95,0	96,0	120,0	56,0	140,0	193,0
Benzo[a]antraceno	< L.D	84,0	104,0	120,0	80,0	214,0	206,0
Indeno[1,2,3-cd]pireno	< L.D	107,0	83,0	115,0	36,0	136,0	147,0
Dibenzo[ah]antraceno	< L.D	83,0	60,0	77,0	24,0	96,0	96,0
Fluoranteno	< L.D	< L.D	< L.D	< L.D	< L.D	< L.D	< L.D
Criseno	5,0	160,0	222,0	315,0	176,0	410,0	460,0
Naftaleno	< L.D	< L.D	< L.D	< L.D	< L.D	< L.D	< L.D
Acenaftileno	3,4	135,0	40,0	814,0	1040,0	1100,0	645,0
Acenafteno	< L.D	504,0	153,0	1930,0	2247,0	2320,0	1550,0
Fluoreno	4,4	536,0	425,0	880,0	1144,0	1150,0	840,0
Fenantreno	< L.D	600,0	678,0	702,0	865,0	930,0	670,0
Sumatoria HAP	22,0	2750,0	2380,0	5664,0	6270,0	7505,0	5580,0

< L.D: Menor al límite de detección.

baja bioacumulación de HAP, que podría estar relacionada con la presencia de compuestos de bajo PM, los que pueden ser rápidamente liberados a la atmósfera y, por lo tanto, no son disponibles para los organismos acuáticos (Solé *et al.* 2007)

Los compuestos restantes fueron incorporados por los organismos en mayor proporción para aquellos de alto PM, teniendo en cuenta los niveles determinados frente a las concentraciones suministradas. A este comportamiento, se suma una baja variabilidad a lo largo del periodo de exposición; mientras que los compuestos de menor PM presentaron un comportamiento inverso, situación derivada de la mayor disponibilidad y menor persistencia que les caracteriza.

Los máximos niveles de HAP en los organismos, se registraron luego de 25 días de exposición, en *A. similis*, alcanzando una concentración de $75,05 \times 10^2$ ng/g (Tabla 3), frente a $45,60 \times 10^2$ ng/g, para el mismo periodo de tiempo, en *A. tuberculosa*, cuya máxima concentración se registró luego de 35 días de prueba, con $48,00 \times 10^2$ ng/g (Tabla 2), lo que indica que la velocidad y la capacidad de incorporación de estos compuestos, por parte de la primera especie, es mucho mayor.

En cuanto a los niveles de HAP incorporados por los organismos, estos fueron mayores para el acenafteno y fluoreno, en ambas especies, siguiéndole en concentración el fenantreno y el acenaftileno, en *A. similis* y, ambos compuestos, de manera invertida, en *A. tuberculosa*, como se puede observar en las figuras 2 y 3. Los compuestos de bajo PM presentaron oscilaciones importantes durante las pruebas y una mayor incorporación con respecto a los de alto PM.

Este comportamiento es similar al presentado por el mejillón *Mytilus galloprovincialis*, al exponerse bajo condiciones de laboratorio, a concentraciones de HAP, pues en esta especie se registró una mayor acumulación de compuestos de bajo PM (Baussant *et al.* 2001a,b; Neff, 2002; Meador, 2003). Así mismo, se encontró que la depuración de los compuestos de menor PM y mayor solubilidad en agua, como el naftaleno, fue mucho más rápida (Baussant *et al.* 2001a,b).

El benzo[a]pireno registró la menor concentración acumulada por ambas especies, mientras que los compuestos restantes no presentaron un patrón o relación en cuanto a acumulación comparable entre ellas; sin embargo, se observó un comportamiento bastante similar entre los compuestos de alto PM, en ambas especies.

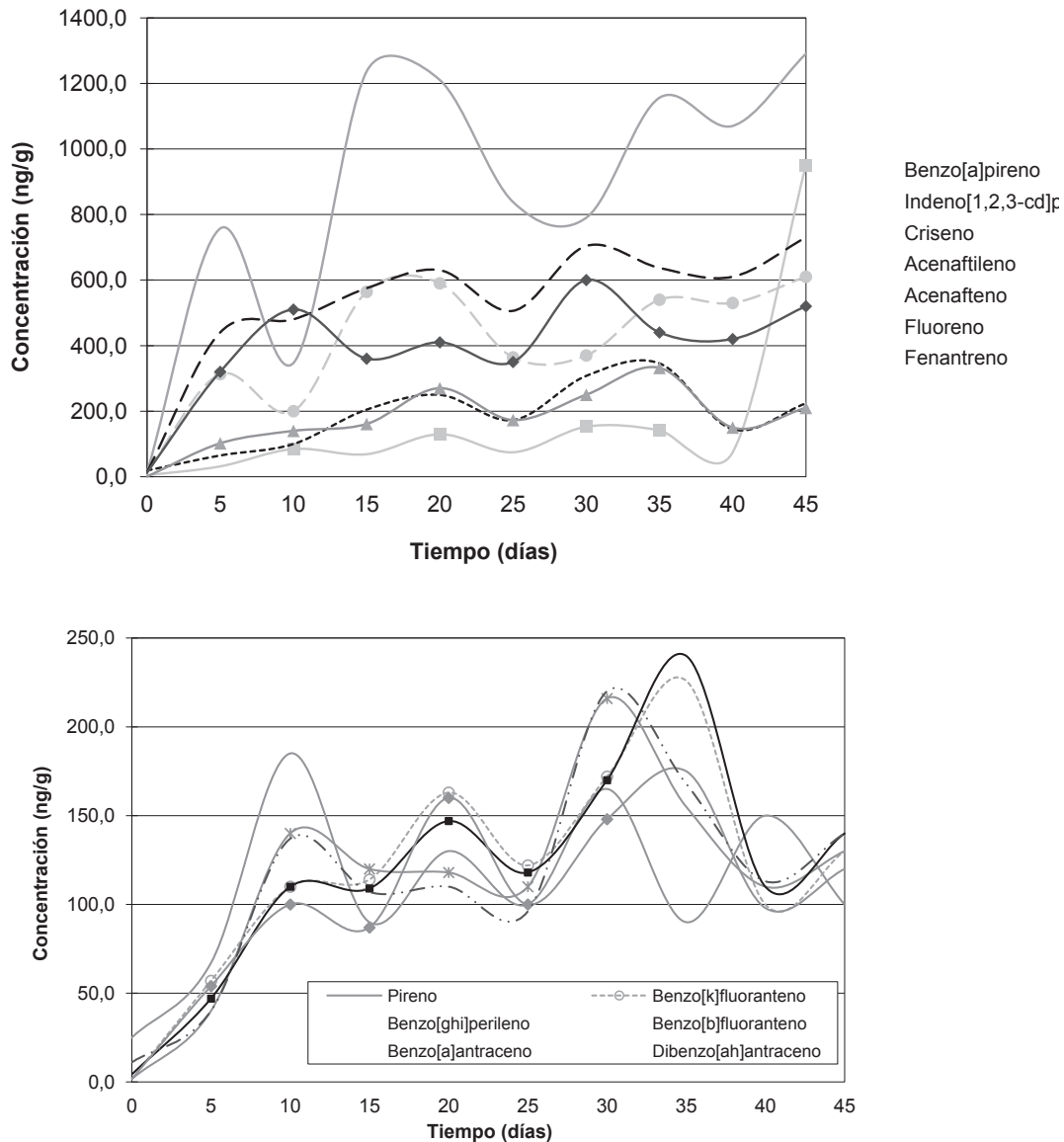


Figura 2. Comportamiento de HAP en *Anadara tuberculosa* durante la prueba de bioacumulación.

El reglamento de la Comisión Europea CE (2011) establece que el contenido máximo de HAP en moluscos bivalvos (frescos, refrigerados o congelados) se ha estimado en 5,0ng/g, para el benzo[a]pireno; sin embargo, como es posible que el mismo no se encuentre acumulado por los organismos, se ha planteado una concentración de 30ng/g para la suma de benzo[a]pireno benzo[a]antraceno, benzo[b] fluoranteno y criseno, con el fin de emplear estos cuatro compuestos como un marcador o indicador de toxicidad, para los HAP.

Teniendo en cuenta este reglamento, las concentraciones de HAP determinadas para los organismos de ensayo (Tablas 2

y 3), evidencian que los mismos solamente se encontraban aptos para el consumo humano antes de dar inicio a las pruebas (tras varios días, bajo condiciones de aclimatación), pues luego de ser expuestos a la mezcla de HAP, tanto el nivel de benzo[a]pireno como el de la sumatoria de compuestos relacionados como indicadores, superaron el contenido máximo estipulado.

Las concentraciones de HAP en los organismos presentaron variaciones a lo largo de las pruebas, comportamiento usual ante la exposición a contaminantes en el medio, ya que los organismos no solo incorporan los contaminantes, sino que, a la vez, pueden realizar excreción de los mismos,

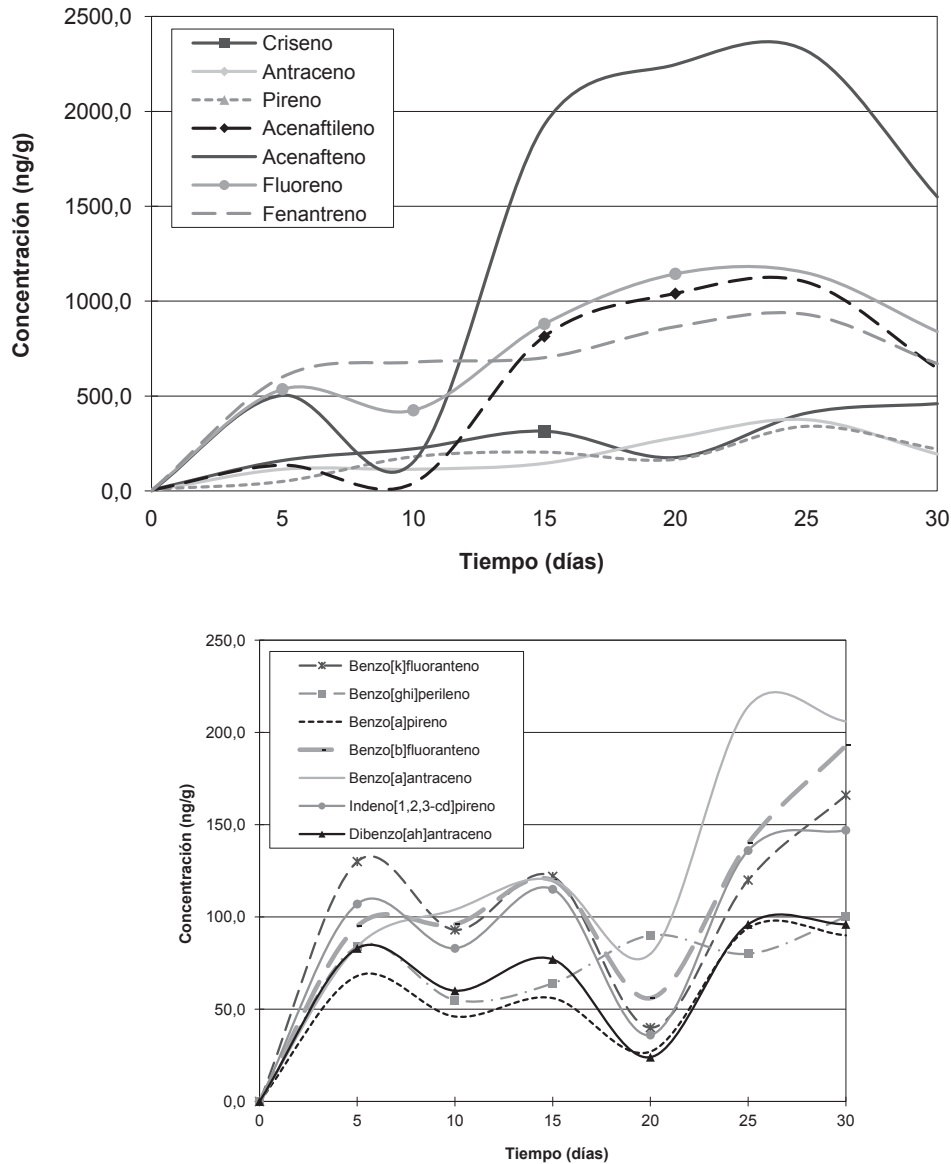


Figura 3. Comportamiento de HAP en *Anadara similis* durante la prueba de bioacumulación.

aumentando y disminuyendo las concentraciones en sus tejidos, aún en presencia de los compuestos en el medio (Calero & Zambrano, 1997; CSIC, 2003; Prada-Ríos & Zambrano-Ortiz, 2006).

Estos procesos de incorporación y de depuración han sido reportados en organismos presentes en el ambiente natural, tras evaluaciones en zonas afectadas por el ingreso de petróleo al medio marino, presentando, inicialmente, un proceso rápido de incorporación y, luego, los compuestos son excretados y disminuyen o se eliminan totalmente, cuando la contaminación en el medio desciende o desaparece (CSIC, 2003).

Lo que define la mayor o menor capacidad de bioacumulación de un compuesto es el tamaño de la molécula, que al aumentar el PM genera un incremento en la persistencia, en la toxicidad y en el carácter lipofílico, siendo los organismos acuáticos altamente afectados por estas características de los HAP (Antón & Lizaso, 2003).

Ambas especies registraron mortalidad a lo largo de la prueba, alcanzando un 43,50%, en *A. tuberculosa* (entre los días dos y 29) y, un 48,50%, en *A. similis* (del día dos al 21, con un alto porcentaje entre los días dos y 12). En los recipientes de control, *A. tuberculosa* alcanzó una mortalidad del 33,33% (entre los días 13 y 33) y, de un 53,33%, en

A. similis (entre los días siete y 18), en el control. En los recipientes a los que se adicionó acetona, se registró una mortalidad correspondiente al 56,66%, para *A. tuberculosa* (en los días 16 y 22) y, del 66,66%, *A. similis* (entre los días cinco y 13).

Esta tasa de mortalidad, se puede relacionar con una alta sensibilidad de los organismos expuestos, pues no solo se presentó en los recipientes que contenían la mezcla de HAP, sino también en los dos tipos de recipientes de control. Sin embargo, debido a que durante el periodo de aclimatación (10 días) la sobrevivencia fue total, es claro que los organismos se encontraban en óptimas condiciones al inicio del ensayo.

Por otra parte, el que se registrara mortalidad en los organismos de ambos tipos de control (agua de disolución y agua-acetona) descarta la posibilidad que la misma se asociara exclusivamente con la exposición al solvente o a la mezcla suministrada. Esta mortalidad, evidencia la presencia de un factor adicional a la mezcla de HAP suministrada, que ejerció una influencia negativa sobre los organismos, probablemente, asociado con el periodo previo de aclimatación, pues pruebas de bioacumulación en las que *A. tuberculosa* se expuso a concentraciones de HAP, de manera individual o en mezcla bajo condiciones similares a la del presente ensayo, y en las que este periodo no superó los cinco días, no se registró mortalidad en los recipientes de control ni en aquellos en que se expusieron los organismos a la solución de prueba (Calero & Zambrano, 1997; Prada-Ríos & Zambrano-Ortiz, 2006).

El periodo de aclimatación fue mayor al empleado en bioensayos previos, con el fin que los organismos depuraran los niveles de HAP que pudieran haber incorporado del medio antes de su captura.

El cese total de la mortalidad transcurrido en un determinado periodo de tiempo evidencia una respuesta de adaptación por parte de los organismos, tras una mayor sensibilidad inicial que, sin duda, fue acentuada por la presencia de la mezcla tóxica en el medio. Esta "adaptabilidad", se puede comparar con las respuestas presentadas por los organismos en el medio natural, después del ingreso de compuestos tóxicos que, en principio, genera una alta mortalidad, la cual, disminuye paulatinamente.

Los altos niveles de HAP incorporados por los organismos, no solo ratifican la importancia de las especies de bivalvos en los estudios de evaluación de contaminantes, sino que, a la vez, evidencian el alto riesgo que representa para la salud de los consumidores de estos productos, situación que se potencializa cuando los mismos provienen de áreas contaminadas.

La alta capacidad de bioacumulación, especialmente, presentada por parte de *A. similis* frente a *A. tuberculosa*, evidencia un mayor potencial de la misma como especie biomonitora; así mismo, el mayor porcentaje de mortalidad registrado por esta especie puede estar influenciado por los altos niveles de contaminantes incorporados en cortos periodos de tiempo y, a la vez, sugiere una mayor sensibilidad de la especie ante condiciones adversas.

Estas características no solo ratifican la importancia y el potencial de ambas especies como organismos biomonitores, sino que resultan muy importantes, si se tiene en cuenta que se ha determinado que especies de bivalvos, como *Mya arenaria*, tras acumular concentraciones elevadas de HAP, necesitan varias semanas en tanques de depuración para reducirlas a niveles insignificantes (Lee *et al.* 2010), lo que, sin duda, evidencia la necesidad de realizar seguimientos a las concentraciones de estos compuestos en las especies estudiadas, con el fin de evaluar su calidad, teniendo en cuenta la gran demanda para su consumo por parte de las poblaciones, ubicadas en el litoral Pacífico colombiano y en otros países de la región.

Agradecimientos: Los autores agradecen a la Dirección del Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas del Pacífico – CCCP de la Dirección General Marítima – DIMAR, por la financiación para el desarrollo del presente estudio y al personal del laboratorio de química por su valiosa colaboración en los análisis de las muestras. **Conflicto de intereses:** El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe ningún conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados. **Financiación:** Este estudio fue financiado por el Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas del Pacífico – CCCP.

BIBLIOGRAFÍA

1. ACHTEN, C.; HOFMANN, T. 2009. Native polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in coals – a hardly recognized source of environmental contamination. *Sci. Total Environ.* 407:2461-2473.
2. ANTÓN, A.; LIZASO, J. 2003. Hidrocarburos aromáticos policíclicos. Fundación Ibérica para la Seguridad Alimentaria. Madrid (España). 225 p.
3. APHA, AWWA, WEF. 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 21st ed. American Public Health Association. Washington, DC. (Estados Unidos). Part 8000. 8, p.94-100.

4. ARDILA, N.; NAVAS, G.R.; REYES, J. (Eds.). 2002. Libro rojo de invertebrados marinos de Colombia. INVEMAR. Ministerio de Medio Ambiente. La serie Libros rojos de especies amenazadas de Colombia. Bogotá (Colombia), p.96-98.
5. ATSDR. 2011. 2007 CERCLA Priority List of Hazardous Substances. Atlanta, GA, (Estados Unidos). Disponible desde Internet en: www.atsdr.cdc.gov/cercla/07list.html (con acceso 26/04/2011).
6. BAUSSANT, T.; SANI, S.; JONSSON, G.; SKADSHEIM, A.; BORSETH, J.F. 2001a. Bioaccumulation of polycyclic aromatic compounds: 1. Bioconcentration in two marine species and in semipermeable membrane devices during chronic exposure to dispersed crude oil. *Environ. Toxicol. Chem.* 20 (6):1175-1184.
7. BAUSSANT, T.; SANI, S.; SKADSHEIM, A.; JONSSON, G.; BORSETH, J.F.; GAUDEBERT, B. 2001b. Bioaccumulation of polycyclic aromatic compounds: 2. Modeling bioaccumulation in marine organisms chronically exposed to dispersed oil. *Environ. Toxicol. Chem.* 20(6):1185-1195.
8. BELIAEFF, B.; O'CONNOR, T.P.; DASKALAKIS, D.K.; SMITH, P.J. 1997. U.S. Mussel Watch data from 1986-1994: Temporal Trend detection at large spatial scales. *Environ. Sci. Technol.* 3:1411-1415.
9. BELLAS, J.; SACO-ÁLVAREZ, L.; NIETO, O.; BEIRAS, R. 2008. Ecotoxicological evaluation of polycyclic aromatic hydrocarbons using marine invertebrate embryo-larval bioassays. *Mar. Pollut. Bull.* 57:493-502.
10. CALERO, L.; ZAMBRANO, M. 1997. Bioacumulación de hidrocarburos aromáticos del petróleo en un molusco bivalvo *Anadara tuberculosa*. *Bol. Cient. Cccp. (Colombia)*. 6:131-137.
11. CASANOVA, R. 1995. Estudio de la contaminación marina por compuestos organoclorados en el Pacífico colombiano. *Bol. Cient. Cccp. (Colombia)*. 5:146-160.
12. CCME, Canadian Council of Ministers of the Environment. 2010. Canadian Soil Quality Guidelines for Carcinogenic and Other Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (Environm. and Human Health Effects). *Sci. Criteria Document (revised)*. Quebec (Canada). 216p.
13. CE, Comisión Europea. 2011. REGLAMENTO (UE) No. 835/2011 de la Comisión de 19 de agosto de 2011. Contenido máximo de hidrocarburos aromáticos policíclicos en los productos alimenticios. *Diario oficial de la Unión Europea*. Bruselas (Bélgica). L 215/4-8. Disponible desde Internet en: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:215:0004:0008:ES:PDF> (con acceso 22/05/2012).
14. CHEĆ, E.; PODGÓRSKA, B.; WĘGRZYN, G. 2008. Comparison of the use of mussels and semipermeable membrane devices for monitoring and assessment of accumulation of mutagenic pollutants in marine environment in combination with a novel microbiological mutagenicity assay. *Environ. Monit. Assess.* 140:83-90.
15. CSIC. 2003. Impacto de un vertido de petróleo sobre los organismos marinos. Algunas lecciones del vertido del Aegean sea. Informe técnico No. 15. (España). Disponible desde Internet en: <http://csicprestige.iim.csic.es/informes/info15.pdf> (con acceso 03/04/2011).
16. DE LA CRUZ, E. 1994. Stable pollutants in the bivalve *Anadara tuberculosa*, from the Nicoya Gulf, Costa Rica. En: Otchere, F.A. 2005. Organochlorines (PCBs and pesticides) in the bivalves *Anadara (Senilis) senilis*, *Crassostrea tulipa* and *Perna perna* from the lagoons of Ghana. *Sci. Total. Environ.* 348:102-114.
17. Diario Oficial de la Unión Europea. 2011. REGLAMENTO (UE) No. 835/2011 DE LA COMISIÓN de 19 de agosto de 2011. Contenido máximo de hidrocarburos aromáticos policíclicos en los productos alimenticios. Bruselas. Bélgica. 5p.
18. EISLER, R. 2000. Polycyclic aromatic hydrocarbons. In: Eisler, R. (ed.) *Handbook of chemical risk assessment*. Volume II. Boca Raton, FL. Lewis Publishers (Estados Unidos), p.1343-1411.
19. HERRERO, L.; PALACIOS, A.; HÜN, L.; VEGA, F. 1999. Ausencia de detección de enterovirus en bivalvos *Anadara tuberculosa* (Bivalvia: Arcidae) por contaminación química en el Pacífico de Costa Rica. *Rev. Biol. Trop. (Costa Rica)*. 47:419-427.
20. IARC. 1983. Polynuclear Aromatic Compounds: Part 1, Chemical, environmental and experimental data. *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*. World Health Organization. 32:95-431. (Francia). Last updated: 17 April 1998.

21. INCODER. 2007. Sistema de información sectorial pesquero. En: Lovatelli, A.; Farias, A.; Uriarte, I. (eds). Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura: factores que afectan su sustentabilidad en América Latina. Taller Técnico Regional de la FAO. 20-24 de agosto de 2007, Puerto Montt, Chile. FAO Actas de Pesca y Acuicultura. No. 12. Roma, FAO. p.115-128.
22. LAUENSTEIN, G.G. 1995. Comparison of organic contaminants founding mussels and oysters from a current Mussel Watch Project with those from archived mollusk samples of the 1970s. *Mar. Pollut. Bull.* 30:826-833.
23. LEE, R.; LOVATELLI, A.; ABABOUICH, L. 2010. Depuración de bivalvos: Aspectos fundamentales y prácticos. FAO. Documento Técnico de Pesca. No. 511. Roma. (Italia). 153p.
24. MARRUGO, A.J. 1993. Estudio de la contaminación marina por hidrocarburos en el Pacífico Colombiano – Fase III. *Bol. Cient. Cccp. (Colombia)*. 4:47-60.
25. MEADOR, J.P. 2003. Bioaccumulation of pahs in marine invertebrates. in: Douben, P.E.T. (ed.) PAHs: An ecotoxicological perspective. John Wiley & Sons Ltd. Londres (Reino Unido). p.147-171.
26. NEFF, J.M. 2002. Bioaccumulation in marine organisms. Effect of contaminants from oil well produced water. Elsevier Science Publishers. Oxford. (Reino Unido). 452p.
27. NESTO, N.; CASSIN, D.; DA ROS, L. 2010. Is the polychaete, *Perinereis rullieri* (Pilato 1974), a reliable indicator of PCB and PAH contaminants in coastal sediments? *Ecotox. Environ. Safe.* 73:143-151.
28. OKAY, O.S.; KARACIK, B. 2008. Bioconcentration and phototoxicity of selected PAHs to marine mussel *Mytilus galloprovincialis*. *J. Environ. Sci. Health.* 43(11):1234-1242.
29. PAGE, D.S.; BOEHM, P.D.; BROWN, J.S.; NEFF, J.M.; BURNS, W.A.; BENCE, A.E. 2005. Mussels document loss of bioavailable polycyclic aromatic hydrocarbons and the return to baseline conditions for oiled shorelines in Prince William Sound, Alaska. *Mar. Environ. Res.* 60:422-436.
30. PELLETIER, E.; SARGAIN, P.; PAYET, J.; DEMERS, S. 2006. Ecotoxicological effects of combined UVB and organic contaminants in coastal waters: a review. *Photochem. Photobiol.* 82(4):981-993.
31. POTIN, O.; RAFIN, C.; VEIGNIE, E. 2004. Bioremediation of aged polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)-contaminated soil by filamentous fungi isolated from the soil. *Int. Biodeter. Biodegr.* 54(1):45-52.
32. PRADA-RÍOS, J.E.; ZAMBRANO-ORTIZ, M.M. 2006. Toxicidad aguda y bioacumulación de dos hidrocarburos aromáticos policíclicos (naftaleno y fluoranteno) en *Anadara tuberculosa*. *Bol. Cient. Cccp. (Colombia)*. 13:53-64.
33. PRAHL, H. von; CANTERA, J.R.; CONTRERAS, R. 1990. Manglares y hombres del Pacífico colombiano. Fondo FEN. Bogotá (Colombia). 193p.
34. REY-SALGUEIRO, L.; MARTÍNEZ-CARBALLO, E.; GARCÍA-FALCÓN, M.; SIMAL-GÁNDARA, J. 2009. Survey of polycyclic aromatic hydrocarbons in canned bivalves and investigation of their potential sources. *Food. Res. Int.* 42:983-988.
35. RUSSELL, M.L.; GOTH-GOLDSTEIN, R.; APTE, M.G.; FISK, W.J. 2002. Analytical Method for the determination of Individual (N-alkanes and Isoprenoids) and Total Petroleum Hydrocarbons (TPH), Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) and Biomarker Triterpanes and Steranes in Oil and Oil-spill-related. Environmental Samples (Water, Particulates and Soils/Sediment): Berkeley (CA): LawrenceBerkeleyNationalLaboratory, Environmental Energy Technologies Division; 2002 Jan. Report No.: LBNL49574. Contract No.: DEAC0376SF00098. Sponsored by the Department of Energy. Ottawa (Canada), ON, K1A 0H3.
36. SERICANO, J.L.; WADE, T.L.; JACKSON, T.J.; BROOKS, J.M.; TRIPP, B.W.; FARRINGTON, J.W.; MEE, L.D.; READMAN, J.W.; VILLENEUVE, J.P.; GOLDBERGS, E.D. 1995. Trace organic contamination in the Americas: an overview of the US National Status & Trends and the International "Mussel Watch" Programmes. *Mar. Pollut. Bull.* 31(4-12):214-225.
37. SOLÉ, M.; BUET, A.; ORTIZ, L.; MAYNOU, F.; BAYONA, J.J.; ALBAIGÉS, J. 2007. Bioaccumulation and biochemical responses in mussels exposed to the water-accommodated fraction of the Prestige fuel oil. *Sci. Mar. (España)*. 71(2):373-382.
38. SORIANO-SANZ, J.A.; FRANCO-HERNÁNDEZ, A.; VIÑAS-DIÉGUEZ, L.; CAMBEIRO-CAMBEIRO,

- B.; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, J.J. 2006. Datos preliminares de hidrocarburos aromáticos policíclicos en mejillón silvestre de la costa cantábrica (España) después del vertido del Prestige. *Cienc. Mar. (España)*. 32(2B):457-463.
39. VELÁSQUEZ LÓPEZ, O.; CORTES, L.M. 1997. Estudio y evaluación de metales traza (Pb, Cr, Cd y Hg) en aguas, sedimentos y organismos marinos de la bahía de Buenaventura. *Bol. Cient. Cccp. (Colombia)*. 6:57-61.
40. ZEDECK, M.S. 1980. Polycyclic aromatic hydrocarbons: a review. *J Environ. Pathol. Tox.* 3:537-567.

Recibido: Octubre 11 de 2011

Aceptado: Agosto 17 de 2012