



industriales
etsii

Escuela Técnica
Superior
de Ingeniería
Industrial

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE CARTAGENA

Escuela Técnica Superior de Ingeniería
Industrial

PCBs y DDTs como indicadores de contaminación industrial y agrícola en el Mediterráneo español.

TRABAJO FIN DE GRADO

GRADO EN INGENIERÍA EN TECNOLOGÍAS
INDUSTRIALES

Autor: Pablo Esteban Crespo
Director: José María Moreno Grau
Codirector: Juan Antonio Campillo González



Universidad
Politécnica
de Cartagena

Cartagena, 6/10/2016

INDICE

1. ABSTRACT.....	3
2. Introducción.....	4
3. Materiales y métodos.....	7
3.1. Puntos de muestreo y procesamiento de las muestras.....	7
3.2. Preparación de las muestras y análisis químico.....	8
3.3. Análisis químico y cuantificación.....	9
3.4. Análisis estadístico.....	10
4. Resultados y discusión.....	10
4.1. Distribución espacial de los insecticidas organoclorados.....	11
4.2. Distribución espacial de los PCBs.....	17
5. Valoración ecotoxicológica de los niveles de PCBs.....	21
6. Comparativa con los niveles ambientales obtenidos en otras áreas geográficas.....	22
7. Conclusiones.....	25
8. Bibliografía.....	27
9. Anexo I. Procedimiento químico en el laboratorio.....	31
9.1. Día 1.....	31
9.2. Día 2.....	32

1. ABSTRACT.

In this project the Red Mullet (*Mullus Barbatius*) will be used as a biomarker of the marine environment. The samples are prepared and analyzed in the laboratory with a specific chemical process. Pollutant concentration values are obtained from gas chromatograph from samples. These pollutants include: all PCBs (congeners 28, 52, 101, 118, 138, 153 and 180), hexachlorobenzene (HCB), aldrin, isodrin, trans-nonachlor (t-NNC), *pp'*-DDE, *pp'*-DDT, *op'*-DDT, *pp'*-DDD and endrin, dieldrin, α -HCH (alpha-Hexachlorocyclohexane) and lindane (gamma-Hexachlorocyclohexane). All these contaminants will be analyzed in six points of the Spanish Mediterranean coast: Barcelona, Tarragona, Delta del Ebro, Valencia, Santa Pola and Palma de Mallorca. Descriptive statistics (average and standard deviation) were calculated, both the Shapiro-Wilk test and Levene test of homogeneity of variance were performed. An ANOVA test was performed in order to study the comparison of average method. Tukey test as post-hoc was used to determine which stations differed significantly. The following range of values was obtained for Σ PCBs: [314.99-3599.31] $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ lipid. And for Σ DDXs: [218.05-2190.49] $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ lipid. Sampled areas with higher concentration of pollutants were Barcelona, Tarragona and Delta del Ebro. An ecotoxicological evaluation of the levels of PCBs was made and the levels obtained were compared with the EACs. Pollutant values exceeding EACs were obtained in Barcelona and in Delta del Ebro. Finally a comparison with studies by other authors in other areas of the Iberian Peninsula and other areas of the Mediterranean Sea is carried out. Contaminant levels obtained in the Greek coast (Aegean Sea) and Italy (Tyrrhenian Sea) are similar to the data obtained in this study. In areas of the Adriatic and Ionian Sea, pollution levels collected were higher than ours. At the end of the project includes an annex with additional information on laboratory work for the preparation and analysis of samples.

2. Introducción.

El destino de muchos de los compuestos químicos que se usan en la industria, la agricultura o domésticamente es el medio ambiente marino, acumulándose en muchos casos en los hábitats bentónicos. Este es el caso de los compuestos denominados compuestos orgánicos persistentes (COP) que comparten cuatro características básicas que los diferencian: Son altamente tóxicos para los seres vivos, se bioacumulan y se biomagnifican a lo largo de la cadena alimentaria, son persistentes y resistentes a la degradación ambiental y pueden desplazarse grandes distancias (Williams, 1996; Morrisey et al., 2003; Roberts et al., 2008).

Entre estos destacan los PCBs (Bifenilos policlorados) (McManus et al., 1983), una familia de sustancias químicas sintéticas formados por dos bifenilos sustituidos en diferentes posiciones por diferente número de átomos de cloro. Existe un total de 209 posibles congéneres de PCBs diferentes. Los PCBs se han usado en infinidad de productos, como pueden ser aparatos eléctricos, revestimiento de superficies, tintas, adhesivos, etc... Por lo general son muy estables, lo que explica su persistencia en el medio ambiente (Bergman et al., 1994; Jacobson et al., 1989).

También se puede encontrar los DDTs (Dicloro difenil tricloroetano), un pesticida organoclorado que comenzó a utilizarse de forma extensa en la II Guerra Mundial para el control de enfermedades transmitidas por insectos. Los DDTs han tenido un uso agrícola e industrial durante décadas. Debido a su impacto medioambiental se prohibió casi universalmente. Se obtuvieron evidencias de los efectos tóxicos de estos compuestos y más adelante se descubrió que estas sustancias eran liposolubles, persistentes y tendentes a la biomagnificación a lo largo de la cadena alimentaria (Rachel L. Carson, 1962).

Como consecuencia de todo esto, se han elaborado numerosos Tratados y Convenios para el control de la contaminación y sus efectos en el medio marino. El Convenio de Barcelona (1976), elaborado para proteger la región costera del Mediterráneo, a través del programa MED POL lleva a cabo actividades de monitorización de diferentes contaminantes químicos en toda la cuenca del Mediterráneo con el fin de obtener información para poder tomar medidas de protección. De ámbito más europeo encontramos que la Unión Europea aborda una política común del medio marino a través de las llamadas Estrategias Marinas (Directiva 2008/56/CE del 17 de Junio), aplicada al ordenamiento jurídico español mediante la Ley de protección del Medio Marino 41/2010 del 29 de Diciembre, donde se plantean como objetivos, entre otros, la conservación, la protección y la mejora de estos ecosistemas.

En el caso específico de los compuestos organoclorados persistentes, como los DDTs o los PCBs, debido a su toxicidad, su producción y uso fue prohibida por la mayor parte de los países desarrollados. Así el uso y producción de DDTs y PCBs está prohibida en la mayor parte de países europeos desde los años 70. Posteriormente, el 22 de Mayo de 2001, se lleva a cabo la Convención de Estocolmo, donde tiene lugar la firma del

Convenio de Estocolmo sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes. Su finalidad es la protección de la salud humana y medio ambiente frente a la amenaza que supone el uso de estos compuestos, estableciendo medidas que permitan eliminarlos, y cuando no sea posible, que reduzcan sus emisiones.

Cuando llegan al mar muchos de estos compuestos suelen concentrarse en zonas costeras o en estuarios, al actuar los sedimentos de estas áreas como trampa que los retiene. Las vías por las que entran en el medio marino son variadas, por ejemplo a través de ríos, emisiones puntuales de depuradoras o arrastrados por las aguas de escorrentía (GESAMP, 1989; EEA, 1999). Muchos de estos compuestos químicos, por sus propiedades, no se degradan fácilmente por procesos físicos, químicos o biológicos, por lo que persisten en el medio ambiente durante largos periodos absorbidos por los sedimentos marinos o en el tejido de muchos organismos (UNEP, 2004). Estos contaminantes pueden quedar biodisponibles o no, es decir, pueden pasar a la cadena trófica o bien pueden tener dificultades para ello. Debido al aumento de la explotación de los recursos marítimos, esta contaminación también afectará a la salud humana al ser los productos marinos una parte importante de nuestra dieta.

En este contexto, el Instituto Español de Oceanografía (IEO) se encarga de aplicar en nuestras costas, desde hace más de 20 años, un programa de vigilancia ambiental para conocer la presencia de estos compuestos aportando datos al MED POL. Gracias a estos programas de vigilancia se puede conocer la distribución espacial de estos contaminantes así como sus tendencias temporales en el medio marino que nos permitan identificar las zonas donde estas sustancias constituyen un problema ambiental. En la actualidad, el IEO realiza estudios periódicos de la contaminación en el litoral español mediante la realización de una serie de Campañas Oceanográficas en el Mediterráneo. Estos programas de vigilancia ambiental permiten elaborar medidas de control y de protección de los ecosistemas marinos, aportando información sobre posibles modificaciones o alteraciones que se produzcan por acciones, entre otros, del ser humano (van der Oost et al., 2003; véase también, Zorita y otros, 2007., 2008; Solé et al., 2009). Estos programas de monitorización de la contaminación se basan en el análisis químico de determinadas matrices ambientales que reflejan el grado de contaminación ambiental. Por ejemplo, en el Mediterráneo se usa el mejillón como indicador de la contaminación existente en agua y un pez, el salmonete de fango (*Mullus barbatus*), que será objeto de estudio en este trabajo, un pez bentónico, que vive asociado al sedimento y refleja, por lo tanto, la biodisponibilidad de los contaminantes que existen en esta matriz (Porte y Albaigés, 1993; Zorita et al, 2007, 2008).

El *Mullus barbatus* es una especie de peces de valor comercial con una amplia distribución en el Mediterráneo, que se encuentra en fondos fangosos del medio marino comprendidos en un rango entre 10 y 300 metros de profundidad, que vive en contacto con el sedimento marino (Froese y Pauly, 2012).

Debido a su extrema sensibilidad y una excelente habilidad para bioacumular diferentes tipos de contaminantes, el salmonete de fango ha sido ampliamente utilizado como bioindicador de vigilancia de la contaminación (Zorita et al., 2008; Insausti et al., 2009; Solé et al., 2009; Della Torre et al., 2010). Esta especie se recomienda como una especie centinela en el Mediterráneo (FAO / PNUMA, 1993, 1997; UNEP / RAMOGE, 1999).

El objetivo de este trabajo fue el estudio de la distribución de estos contaminantes en el litoral mediterráneo español de la demarcación levantino balear. Para ello se usó salmonete de fango como bioindicador, capturado en los principales caladeros de la costa mediterránea: Barcelona, Valencia, Tarragona, el Delta del Ebro, la desembocadura del río Segura (Bahía de Santa Pola) y Palma de Mallorca. Además, los niveles detectados se analizarán para conocer si suponen un riesgo para los ecosistemas marinos, utilizando para ello los valores o criterios medio ambientales, fijados por diferentes Convenios, obtenidos a través de ensayos de toxicidad para los contaminantes analizados. Para el caso de peces, más concretamente, en el caso del salmonete de fango, se utilizará como indicador la suma de los siete PCBs marcadores o indicadores (congéneres 28, 52, 101, 118, 138, 153 y 180), que comprende, aproximadamente, la mitad de la cantidad total de PCBs presentes en piensos y alimentos. Esta suma se va a considerar como un marcador adecuado de la presencia y la exposición humana a los PCBs, cuyo contenido máximo permitido data de 75 µg/Kg en peso fresco (Demarcación Levantino Balear; Descriptor 9, 2012)

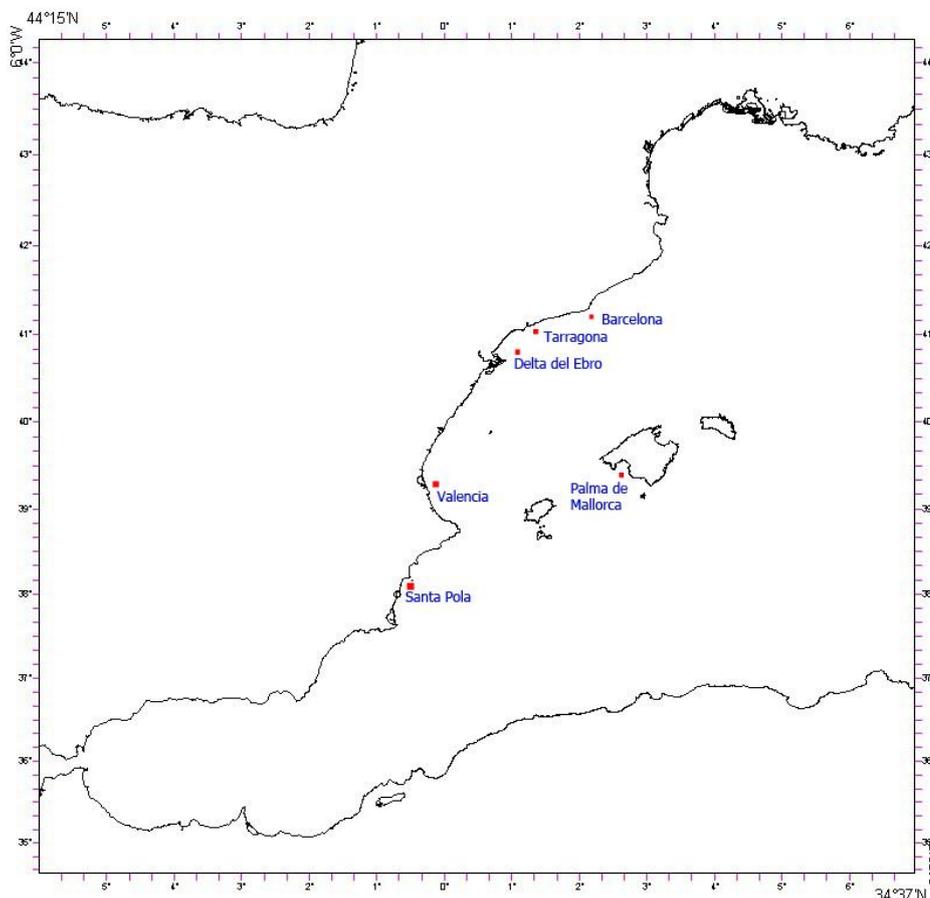
3. Materiales y métodos.

Durante el periodo comprendido entre el 7 y el 20 de Octubre de 2013, se realizó una campaña por el Instituto Español de Oceanografía, más concretamente, el laboratorio del Centro Oceanográfico de Murcia (IEO, San Pedro del Pinatar, Murcia), de recogida de salmonete de fango (*Mullus Barbatius*) a bordo del Buque Oceanográfico FRANCISCO DE PAULA NAVARRO. Durante la campaña se obtuvieron las muestras de salmonete que fueron procesados de acuerdo con los procedimientos operativos que se describen a continuación.

3.1. Puntos de muestreo y procesamiento de las muestras.

A bordo del Buque Oceanográfico se realizaron arrastres de fondo de corta duración (10-15 minutos) utilizando el arte GOC-73 y las puertas Concord 240 kg. Una vez a bordo se seleccionan los ejemplares de salmonete que están dentro del rango de talla estandarizado, comprendidos entre 12-18 cm, para realizar los análisis químicos. Los ejemplares se capturaron en Octubre, fuera del periodo de reproducción de esta especie (Miramand et al., 1991). Las zonas geográficas pertenecientes a la costa del Mediterráneo español donde se realizó la captura de salmonete fueron Barcelona, Tarragona, Delta del Ebro, Valencia, la cuenca del Segura (Santa Pola) y Palma de Mallorca, tal y como se muestra en la Figura 1.

Figura 1: Localización de los puntos de muestreo.



A continuación se expone dónde se realizaron los lances y dónde se recogieron las muestras (Tabla 1):

Tabla 1: Datos relativos a las características hidrológicas de las zonas donde se cogieron las muestras, concretamente salinidad, temperatura y oxígeno disuelto.

Zona	Temperatura (°C)	Salinidad (psu)	Oxígeno disuelto (mg/l)
Santa Pola	22,80	38,06	6,33
Valencia	18,86	37,99	7,02
D. del Ebro	19,49	37,99	6,69
Tarragona	20,99	37,86	6,56
Barcelona	19,69	38,08	6,69
Palma de Mallorca	15,21	38,09	7,46

Para análisis de contaminantes organoclorados el tamaño de la muestra fue de 10 individuos. Una vez a bordo del buque se realizó la disección de cada individuo, guardándose la carcasa (cuerpo eviscerado) para extraer el músculo dorsal en el laboratorio, congelándose a -20°C. Cada pez se talló y pesó individualmente. La longitud y el peso de los ejemplares recogidos en cada una de las zonas de estudio se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2: Datos referidos a las características físicas de las muestras recogidas. Valor medio y desviación típica de longitud y peso según la zona de recogida de muestras.

Zona	Longitud (cm)		Peso (gramos)	
	Media	Desv. típica	Media	Desv. típica
Barcelona	16,33	1,22	45,13	8,79
Tarragona	16,55	1,42	45,73	15,31
D. del Ebro	16,02	2,10	48,52	22,05
Valencia	17,12	1,64	59,42	19,54
Santa Pola	16,42	1,27	46,82	12,35
Palma de Mallorca	15,25	1,03	34,28	6,19

3.2. Preparación de las muestras y análisis químico.

Previo a los análisis correspondientes, se diseccionó el músculo dorsal de cada ejemplar. Las muestras fueron sometidas a un proceso de liofilización. Una vez liofilizados los tejidos fueron triturados usando un molino de bolas de ágata hasta hacerse un polvo homogéneo. Para la extracción de la muestra, el tejido liofilizado (1-2 g) se mezcló con sulfato sódico anhidro (Na_2SO_4), removiendo para homogeneizar en capsulas de cristal. Para más información véase ANEXO I (pág. 31)

Tras ello se extrajo la muestra durante 8 horas en un Soxhlet con una mezcla al 50% (v/v) de dos disolventes orgánicos: pentano y diclorometano (150 ml). La extracción se realiza durante 7 h. El calefactor de la placa calefactora se mantuvo a 48-50°C.

Pasado este tiempo se tomaron 10 ml del disolvente en una cápsula pre-pesada para el cálculo del % de materia orgánica (lípidos) tras secar a 35°C. El resto de disolvente se concentró en un rotavapor y se disolvió en 5 ml de isooctano. Los extractos se purificarán mediante una columna de alúmina. La elución se realizó con pentano.

El extracto obtenido se cromatografió usando una columna de sílica. En este proceso se obtienen dos fracciones: Una primera fracción eluida con 11 ml de isooctano, y una segunda fracción eluida con 10 ml de una mezcla 8:2 (v/v) de isooctano y dietil-eter.

Las fracciones obtenidas se concentraron hasta alcanzar el volumen final requerido para su posterior análisis cromatográfico, utilizando para ello un rotavapor y posteriormente mediante corriente de nitrógeno. Estas fracciones fueron utilizadas para la determinación de los siguientes compuestos: todos los PCBs (congéneres 28, 52, 101, 118, 138, 153 y 180), hexaclorobenceno (HCB), aldrin, isodrin, trans-nonachlor (t-NNC), *pp'*-DDE, *pp'*-DDT, *op'*-DDT, *pp'*-DDD y endrin, dieldrin, α -HCH (alpha-Hexaclorociclohexano) y lindano (gamma-Hexaclorociclohexano).

3.3. Análisis químico y cuantificación.

La cuantificación de los diferentes compuestos presentes en ambas fracciones se realizó mediante cromatografía gaseosa con detector de masas (Agilent Technologies GC6890N-MS5975B), utilizando una columna capilar de baja polaridad SPB5 (Columna capilar 5% bifenil, 95% dimetil siloxano) y con helio como gas portador. El equipo está equipado con un detector PTV (Programmed Temperature Vaporization) programado con una temperatura inicial de 60° C y un gradiente de temperatura hasta alcanzar 300° C. El volumen de inyección fue de 20 μ l y las muestras se analizaron en modo SIM (Selective Ion Monitoring) usando para la cuantificación las masas más abundantes de los compuestos analizados. La cuantificación se realizó mediante una curva de calibrado de 5 concentraciones diferentes para cada analito.

Como patrón interno se empleó el PCB-155, ausente en las muestras ambientales. Se prepararon patrones de todos los compuestos con concentraciones comprendidas entre 1 y 60 ng/g usando como disolvente isooctano. Las concentraciones de todos los compuestos organoclorados se expresan en μ g·kg⁻¹ en contenido lipídico, transformándose a μ g·kg⁻¹ en peso húmedo si es necesario. El límite de detección para todos los compuestos fue de 0,05 μ g·Kg⁻¹ en peso húmedo.

3.4. Análisis estadístico.

Con los datos obtenidos se realizó un sumatorio de PCB, el cual incluía los congéneres 28, 52, 101, 118, 138, 153 y 180. Según ICES (International Council for the Exploration of the Sea) estos 7 congéneres cuentan con una composición que engloba el resto de congéneres de PCBs que existen, tanto los más clorados como los menos clorados. Por lo que el sumatorio de dichos PCBs será suficiente para tener un indicador válido sobre la concentración de los mismos.

De la misma manera se realizó un sumatorio de DDT, formado por los compuestos *pp'*-DDE, *pp'*-DDD, *pp'*-DDT y *op'*-DDT. Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS v15.0. Se calcularon los estadísticos descriptivos (media y desviación típica) y se realizaron los test de normalidad Shapiro-Wilk y el test de homogeneidad de varianzas de Levene. Cuando fue necesario los datos se transformaron logarítmicamente. Para el estudio de comparación de medias se realizó el test de ANOVA. Cuando se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) se empleó el test de Tukey como post-hoc para determinar qué estaciones diferían significativamente.

4. Resultados y discusión.

Pese a la prohibición desde hace décadas de la utilización de este tipo de compuestos, se han detectado elevadas concentraciones de organoclorados en organismos de diferentes zonas costeras estudiadas. Esto supone un riesgo y una preocupación debido a la elevada persistencia y toxicidad que presentan dichos compuestos, tal y como ya han indicado numerosos autores en los últimos años (Perugini et al., 2004).

Los PCBs y los pesticidas organoclorados son muy hidrofóbicos por lo que se concentran de manera eficiente en los tejidos ricos en lípidos de los organismos acuáticos, es por esto que el porcentaje de lípidos en el cuerpo juega un papel muy importante en su bioacumulación (Addison, 1982;. Kawai et al, 1988). Para poder comparar los niveles de contaminantes de organismos de diferentes zonas y conocer su variabilidad geográfica, se ha eliminado la influencia de los lípidos sobre la concentración de contaminantes, normalizando la concentración de estos contaminantes en cada individuo analizado de acuerdo con su contenido lipídico.

4.1. Distribución espacial de los insecticidas organoclorados.

Los resultados obtenidos para los distintos pesticidas organoclorados aparecen en las Tablas 3 y 4. La distribución de DDTs y sus metabolitos obtenida en las diferentes zonas de estudio aparece en la Figura 2.

Figura 2: Se muestran los distintos DDXs en las zonas de muestreo analizadas en contenido lipídico. Para el contaminante *p,p'*-DDE se han obtenido valores muy superiores a los demás contaminantes, por ello, en la segunda gráfica es necesario multiplicar x10 el valor de referencia obtenido en el eje vertical para el *p,p'*-DDE. Se muestran los valores medios de cada insecticida con sus barras de error correspondientes (Desviación típica).

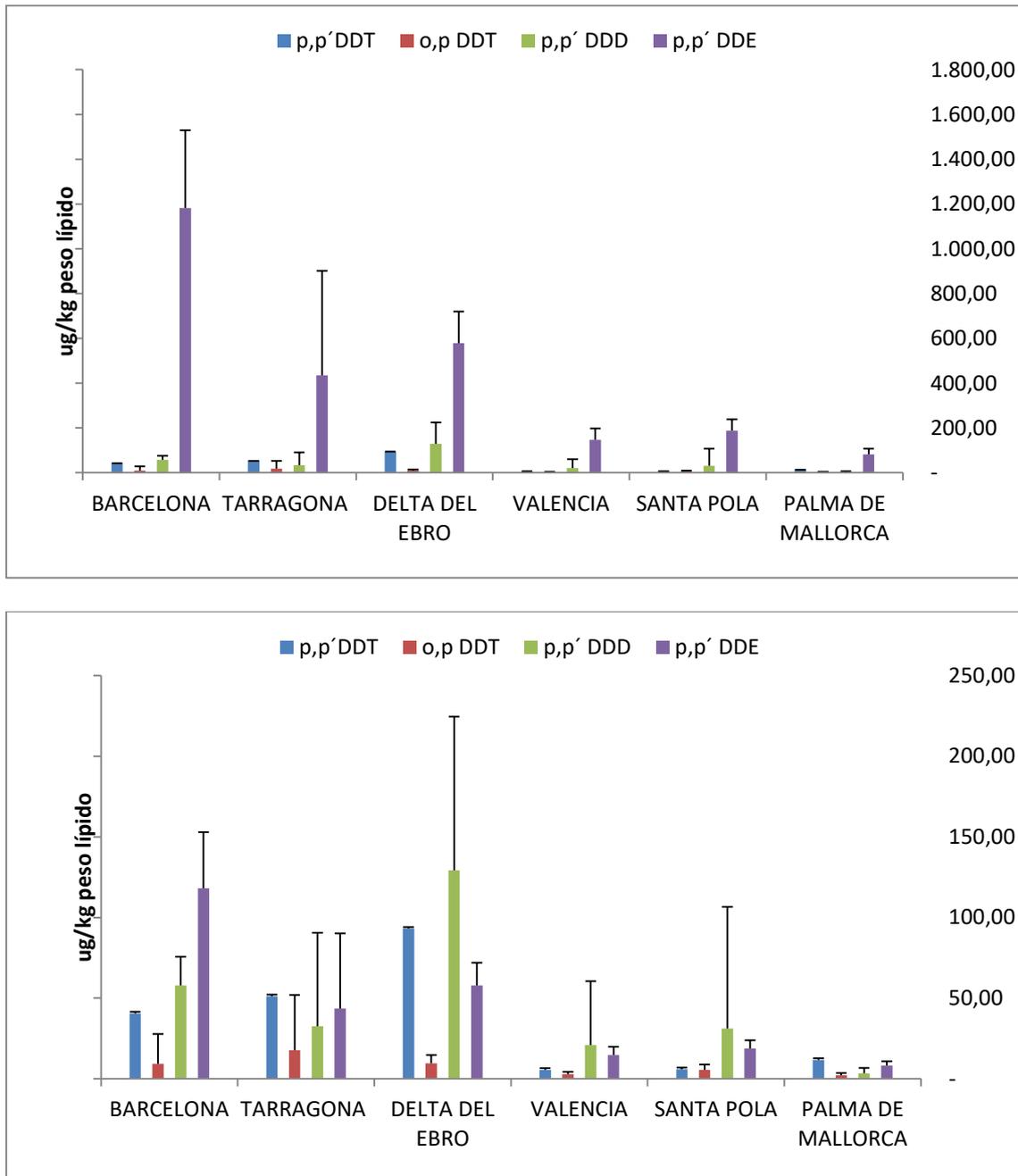


Tabla 3: Estadísticos descriptivos (media \pm desviación típica, $\mu\text{g Kg}^{-1}$ en lípido) de los compuestos organoclorados analizados en salmonete de fango (*Mullus Barbatus*) de las estaciones de muestreo pertenecientes a la red de vigilancia ambiental del Mediterráneo. Los superíndices con la misma letra indican que no había diferencias estadísticamente significativas; <LD= datos por debajo del límite de detección.

Zona de muestreo	DDT-PP	DDT-OP	DDD-PP	DDE-PP	Suma DDX
BARCELONA	40.59 \pm 61.44	9.27 \pm 18.57	57.90 \pm 17.90	1181.43 \pm 347.79	2190.49\pm667.62^A
TARRAGONA	51.10 \pm 92.79	17.64 \pm 34.41	32.61 \pm 57.96	434.85 \pm 466.71	1044.23\pm1304.69^{BC}
DELTA DEL EBRO	93.14 \pm 70.38	9.64 \pm 5.06	129.31 \pm 95.28	577.66 \pm 141.75	1154.67\pm436.80^B
VALENCIA	5.58 \pm 5.42	2.81 \pm 1.50	20.84 \pm 39.74	147.03 \pm 50.68	524.25\pm550.29^C
SANTA POLA	5.83 \pm 3.08	5.47 \pm 3.32	31.13 \pm 75.48	187.35 \pm 51.12	364.66\pm127.46^C
PALMA DE MALLORCA	11.75 \pm 26.44	2.11 \pm 1.38	3.47 \pm 3.24	81.05 \pm 26.51	218.05\pm146.00^C

Tabla 4: Estadísticos descriptivos (media \pm desviación típica, $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ en contenido lipídico) de los compuestos organoclorados analizados en salmonete de fango (*Mullus Barbatus*) de las estaciones de muestreo pertenecientes a la red de vigilancia ambiental del Mediterráneo. <LD= datos por debajo del límite de detección.

Zona de muestreo	α -HCH	Lindano	HCB	Aldrin	Isodrin	Dieldrin	t-NNC	Endrin
BARCELONA	<LD	<LD	5.55 \pm 0.69	23.23 \pm 13.32	28.89 \pm 22.16	14.35 \pm 4.41	2.05 \pm 0.95	5.85 \pm 4.61
TARRAGONA	<LD	<LD	12.45 \pm 22.03	34.21 \pm 70.34	87.07 \pm 154.34	27.06 \pm 42.96	10.08 \pm 19.66	69.14 \pm 189.68
DELTA DEL EBRO	<LD	<LD	7.62 \pm 3.40	13.77 \pm 7.22	13.77 \pm 7.22	16.85 \pm 8.09	5.51 \pm 2.89	13.35 \pm 6.46
VALENCIA	<LD	<LD	4.05 \pm 1.65	6.00 \pm 4.11	17.34 \pm 25.19	17.79 \pm 30.18	1.65 \pm 0.84	3.80 \pm 2.00
SANTA POLA	<LD	<LD	5.75 \pm 2.26	10.26 \pm 6.93	19.07 \pm 17.91	13.24 \pm 7.95	3.01 \pm 1.99	7.03 \pm 4.27
PALMA DE MALLORCA	<LD	<LD	4.45 \pm 2.53	8.21 \pm 9.57	12.60 \pm 9.70	8.44 \pm 4.07	1.32 \pm 0.74	7.25 \pm 7.93

Previamente a la discusión de estos resultados obtenidos en cada zona de muestreo hay que saber que en condiciones aeróbicas, el DDT se metaboliza a DDE (Hites y Day, 1992), y en condiciones anaerobias a DDD (Walters y Aitken, 2001). El DDE es el metabolito más persistente del DDT, con un alto potencial para la ampliación en la cadena alimentaria (Nuro et al., 2008), por lo que es el que más se acumula, siendo descrito como el más tóxico debido a sus efectos hormonales (Vos et al., 2000).

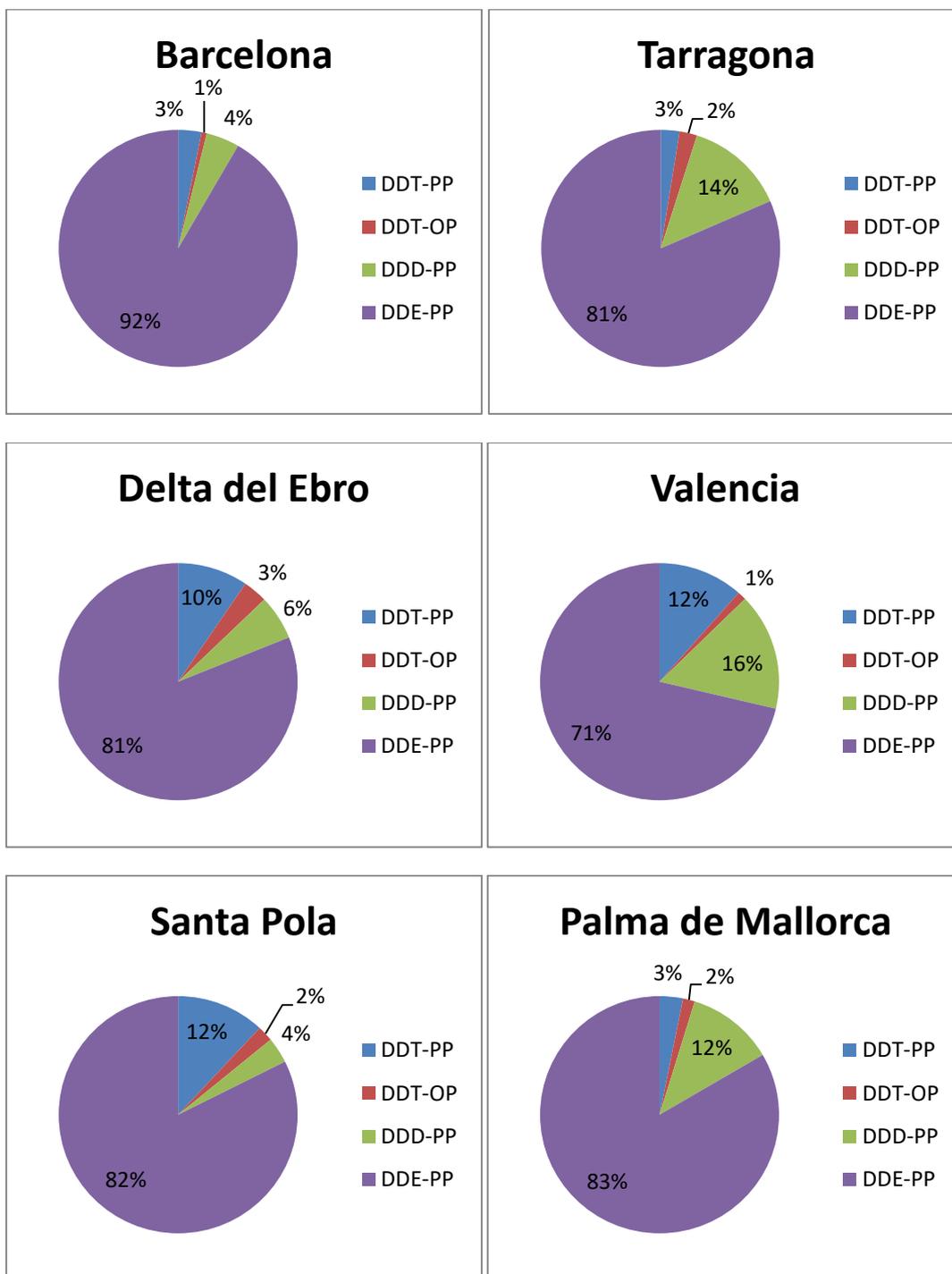
Si consideramos la concentración del DDT y sus metabolitos (Σ DDXs = p,p' DDT + p,p' DDD + p,p' DDE + o,p' DDT), el valor más alto se registró en Barcelona (2190.49 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en contenido lipídico) (Tabla 3), donde predomina el p,p' -DDE (92 % de concentración) (Figura 3) y donde el o,p' -DDT apenas superó los límites de detección. De hecho, la suma de las concentraciones de DDXs en esta estación fue significativamente superior a los del resto de estaciones estudiadas (Ver Tabla 3).

También se detectaron altas concentraciones para el Σ DDXs en el Delta del Ebro (1155 $\mu\text{g}/\text{kg}$ lípido) (Tabla 3), donde también predomina la presencia del p,p' -DDE (81%) (Figura 3) frente a los demás DDXs. Los valores de concentración para la suma de los DDXs en esta estación no mostraron diferencias significativas con respecto a las concentraciones detectadas en Tarragona, pero fueron significativamente superiores a los datos recogidos en las estaciones de Valencia, Santa Pola y Palma de Mallorca.

En los especímenes recogidos en la zona de Tarragona (Suma de DDXs: 1044 $\mu\text{g}/\text{kg}$ lípido) (Tabla 3) también se observa una elevada concentración de DDE (81% del total de la mezcla) (Figura 3). Así, las concentraciones calculadas para la suma de DDXs fueron similares a los valores obtenidos en el Delta del Ebro, pero sí significativamente superiores a las concentraciones de las estaciones de Valencia, Santa Pola y Palma de Mallorca.

En la zona de Valencia (Σ DDXs: 524.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ lípido) (Tabla 3) el metabolito DDE representa el 71% de la concentración total de DDXs (Figura 3) de dicha zona. Aunque la metabolización aeróbica del DDT en DDE fue predominante, también es significativa la presencia de DDD. En general la presencia de DDD es mayor en Valencia, Palma de Mallorca y Tarragona que en las otras 3 zonas de estudio (Figura 3). Sin embargo, los altos porcentajes de DDE detectados en todas las zonas de estudio indican la existencia de unas condiciones aeróbicas en las aguas y sedimentos del Mar Mediterráneo. Por otro lado la existencia de mayores niveles de DDD en determinadas áreas del estudio sugieren la existencia de fuentes como por ejemplo cultivos de arroz, donde el fango es anaerobio y facilita la degradación de los residuos de DDT a DDD (Pastor et al., 2004). De hecho en el parque natural de la Albufera de Valencia hay tierras inundables dedicadas al cultivo de arroz (M. Riccheri, 2000), lo que podría tener relación con los niveles de DDD detectados en Valencia. En la bahía de Santa Pola (364.66 $\mu\text{g}/\text{kg}$ lípido) y Palma de Mallorca (218.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$ lípido) es donde aparecen los valores medios más bajos para la suma de DDXs.

Figura 3: Se muestran los porcentajes de las concentraciones de los distintos DDTs y sus metabolitos a partir de los valores medios de concentración según la zona muestreada.



Por otro lado, el porcentaje de *p,p'*-DDT con respecto al valor obtenido para la ΣDDXs en las diferentes zonas (Figura 3), varía entre un 3% y un 12% en las estaciones de Barcelona y Santa Pola, respectivamente. Así, los porcentajes de DDD en las zonas con un mayor carácter industrial como Barcelona, Delta del Ebro o Santa Pola, son inferiores a los detectados en zonas como Tarragona, Valencia o Palma de Mallorca, zonas donde existe una importante actividad agrícola.

El incremento de abundancia relativo de *p,p'*-DDE, resistente a la degradación posterior, dentro de la mezcla de DDXs es un indicativo de la progresiva degradación del DDT vertido (Kucuksezgin and Gonul, 2012). Por el contrario altos porcentajes de *p,p'*-DDT indica la existencia de aportes recientes de DDT. Algunos trabajos en la zona del Delta del Ebro confirman que los porcentajes de DDT parecen indicar la existencia de aportes frescos de DDT (Gómez-Gutiérrez et al., 2006) que podrían tener su origen en aplicaciones locales en el propio delta. Así, el Ebro es una fuente importante de entrada de compuestos organoclorados al Mediterráneo, de hecho Gómez-Gutiérrez, en 2006, calcula que la descarga de DDT a través del Ebro fue de 50 kg/año en 2002 y 2003. El caso de Flix no puede tampoco ser infravalorado como fuente de estos compuestos, siendo una fuente importante de los mismos. En Flix existe una importante contaminación de los sedimentos afectados por vertidos de deshecho de una planta de cloro-alcali. Los resultados de acumulación durante años de vertidos de la industria localizada en esta localidad de Tarragona, condujo durante décadas a la acumulación de un residuo industrial peligroso (200,000–360,000T) que contiene grandes cantidades de PCBs, DDTs, hexachlorocyclohexano (HCB) y metales como el Hg (Fernández et al., 1999). Los altos porcentajes detectados en este trabajo de *pp'*-DDT en otras áreas como Santa Pola o Valencia, similares a los encontrados en peces capturados en la desembocadura del Ebro, podría del mismo modo indicar que existen vertidos de DDT relativamente recientes de este pesticida.

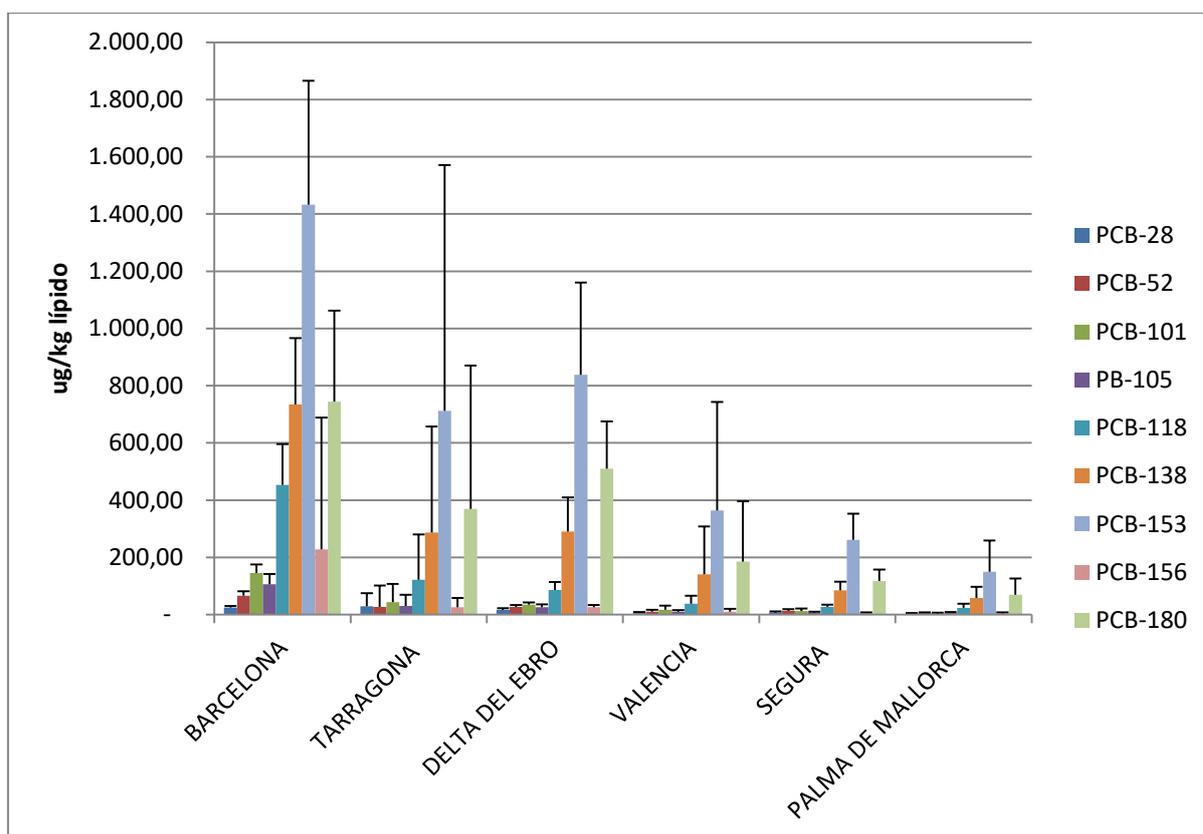
Para el resto de compuestos analizados en este grupo y que aparecen en la Tabla 4, las concentraciones obtenidas son inferiores al límite de detección en todas las zonas de muestreo analizadas para los compuestos α -HCH y su isómero el lindano (g-HCH). El HCB predomina en las estaciones de Tarragona y Delta del Ebro (12.45 y 7.62 $\mu\text{g}/\text{kg}$ lípido, respectivamente) (Tabla 4) frente a las demás zonas muestreadas. Los residuos de HCB detectados podrían proceder de los vertidos de HCB que se producen a través del río Ebro, en cuyo lecho se depositan importantes cantidades de HCB debido a la actividad de la industria química que se ubicó en el municipio de Tarragona de Flix como se indicó anteriormente.

En cuanto a las concentraciones de aldrin, isodrin, dieldrin y endrin fueron muy bajas en todas las estaciones, no superando los límites de detección en algunos casos. Las concentraciones más altas se encontraron en Tarragona, llegando el aldrin a 34.21 $\mu\text{g}/\text{kg}$, el isodrin a 87.07 $\mu\text{g}/\text{kg}$, el dieldrin a 27.06 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y el endrin con 69.14 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de lípido (Tabla 5).

4.2. Distribución espacial de los PCBs.

En la Figura 4 aparecen representados los niveles de PCBs detectados en las distintas muestras recogidas a lo largo de la costa mediterránea. Los estadísticos descriptivos que corresponden a las concentraciones de PCBs vienen recogidos en la Tabla 5.

Figura 4: Concentración de PCBs en contenido lipídico en las distintas zonas analizadas. Se representan a partir de sus valores medios con sus barras de error correspondientes (Desviación típica).

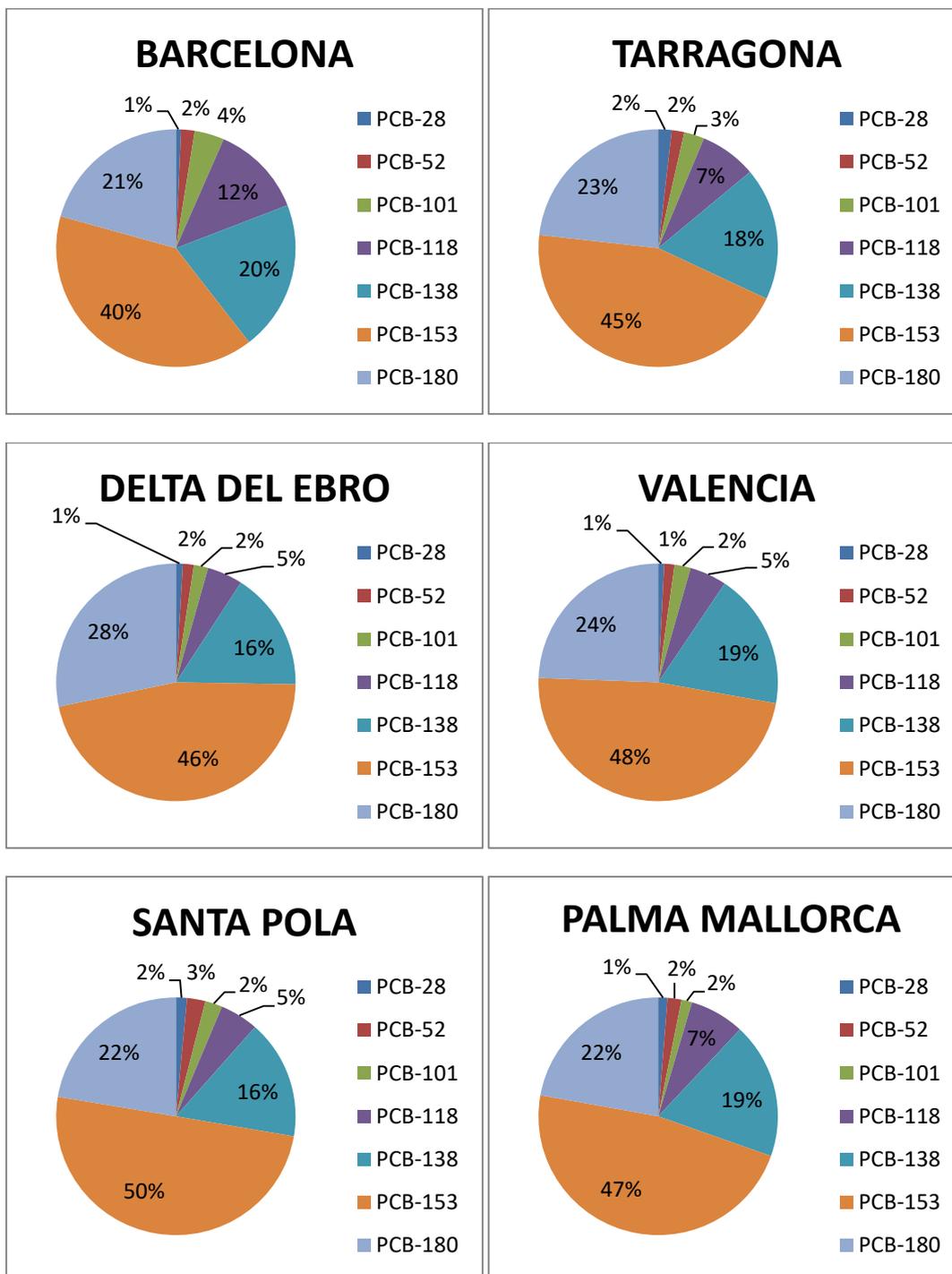


La concentración más elevada de la suma de los 7 PCBs (IUPAC PCBs 28, 52, 101, 118, 138, 153 y 180) se detectó en Barcelona con 3599.31 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en lípido (Tabla 5). Se aprecia claro predominio del PCB-153 seguido por las concentraciones de los congéneres 180 y 138 (Figura 5). Los valores de concentración para la suma de los 7 PCBs en esta estación fueron significativamente superiores a los del resto de estaciones estudiadas (Tabla 5).

Tabla 5: Estadísticos descriptivos (media \pm desviación típica, $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ en contenido lipídico) de los PCBs analizados en salmonete de fango (*Mullus Barbatius*) de las estaciones de muestreo de la red de vigilancia ambiental del Mediterráneo. Los superíndices con la misma letra indican que no hay diferencias estadísticamente significativas; <LD= datos por debajo del límite de detección.

	PCB-28	PCB-52	PCB-101	PCB-105	PCB-118	PCB-138	PCB-153	PCB-156	PCB-180	$\Sigma 7$ PCBs
Barcelona	25,14 \pm 4,54	65,93 \pm 15,61	144,57 \pm 30,61	106,01 \pm 36,19	452,65 \pm 142,95	734,35 \pm 232,20	1432,51 \pm 432,97	227,32 \pm 461,04	744,13 \pm 317,60	3.599,31\pm1057.88^A
Tarragona	28,98 \pm 46,30	26,75 \pm 74,57	43,71 \pm 63,59	30,64 \pm 38,94	121,92 \pm 157,88	287,33 \pm 369,97	712,19 \pm 859,03	26,25 \pm 31,94	369,39 \pm 500,97	1.605,65\pm2066.02^{BC}
D. del Ebro	16,92 \pm 5,29	26,75 \pm 6,56	34,73 \pm 7,27	25,60 \pm 9,74	86,50 \pm 27,32	290,53 \pm 118,57	837,63 \pm 322,80	25,62 \pm 7,81	509,93 \pm 164,64	1.803,03\pm628.68^B
Valencia	6,32 \pm 2,51	11,03 \pm 6,15	17,57 \pm 25,38	10,28 \pm 6,47	40,06 \pm 29,78	153,72 \pm 186,26	390,66 \pm 417,96	11,09 \pm 10,52	193,38 \pm 231,43	760,72\pm806.50^C
Santa Pola	8,56 \pm 3,81	14,01 \pm 5,85	13,30 \pm 9,14	7,74 \pm 2,89	29,59 \pm 6,45	91,02 \pm 34,43	278,05 \pm 106,99	6,48 \pm 1,44	117,96 \pm 748,60	523,06 \pm164.51^C
P. de Mallorca	3,65 \pm 1,32	5,63 \pm 2,65	4,04 \pm 1,67	4,83 \pm 2,31	20,60 \pm 11,30	55,04 \pm 36,84	147,49 \pm 113,36	3,82 \pm 2,62	65,03 \pm 55,97	314,99\pm216.17^C

Figura 5: Se muestran los porcentajes de las distintas concentraciones de los distintos PCBs (N°28, 52, 101, 118, 138, 153 y 180) a partir de los valores medios de concentración según la zona muestreada.



En el Delta del Ebro la concentración fue inferior ($1803.03 \mu\text{g}/\text{kg}$ lípido) (Tabla 5). El congénere 153 fue el más abundante representando un 46% del total de PCBs analizados, seguido por los PCBs 138 y 180 (Figura 5). Los valores de concentración para la suma de los 7 PCBs en esta estación fueron similares a los de Tarragona, y estadísticamente superiores respecto a las concentraciones obtenidas en las muestras de Valencia, Santa Pola y Palma de Mallorca (Tabla 5).

En Tarragona la concentración media fue 1605.65 $\mu\text{g}/\text{kg}$ lípido (Tabla 5). Esta concentración fue significativamente superior a las concentraciones obtenidas en las estaciones de Valencia, Santa Pola y Palma de Mallorca. En estas estaciones las concentraciones de los 7 PCBs no fueron diferentes estadísticamente entre sí, presentando unos valores medios de 760.62 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 523.06 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y 314.99 $\mu\text{g}/\text{kg}$ lípido, respectivamente (Tabla 5).

El patrón general de abundancia relativa de los distintos compuestos analizados fue similar en las diferentes estaciones estudiadas. El más abundante fue el PCB-153 (varió entre un 40-50%), seguido por PCB-180 (21%-28%), PCB-138 (16%-20%), PCB-118 (5%-12%), PCB-101 (2%-4%), PCB-52 (1%-3%) y finalmente el PCB-28 (1%-2%). De esta manera se confirma que los congéneres más clorados, el 153 y el 180 predominan en todas las zonas muestreadas. De la misma manera los congéneres menos clorados, como son el 28 y el 52 tienen una baja concentración en todas las estaciones. El predominio de los congéneres 138 y 153 podría ser una consecuencia de las mezclas industriales de estos compuestos utilizadas en el pasado, así como de su predominancia en las mismas y persistencia en el medio ambiente (MacGregor et al., 2010).

Como era de esperar, al igual que ocurre con los insecticidas organoclorados, las mayores zonas de concentración de PCBs se han detectado en los núcleos urbanos de mayor actividad industrial, como Barcelona y Tarragona. Además, el Ebro se confirma como una vía de entrada importante de este tipo de compuestos al Mediterráneo. Estos resultados confirman trabajos de otros autores que señalan las áreas urbanas e industriales como las más impactadas por la presencia de estos contaminantes de origen antropogénico (Diamond et al., 2010). A pesar de las prohibiciones de uso de estos compuestos, nuestros datos indican que aún persisten y existen fuentes de PCBs que van a parar al Mediterráneo, por ejemplo, equipos electrónicos antiguos con componentes eléctricos que llevan en su interior estos compuestos, o vertederos donde se pueden encontrar residuos que incluyen estos contaminantes. Así, las elevadas concentraciones de Barcelona puede ser debidas a la presencia de uno de los mayores polos industriales de España, donde se concentra la mayor parte de la industria de, entre otros, el cloro. De hecho, en los alrededores de Barcelona existen importantes centros productivos del sector químico (Martorell, Manresa...) y de la metalurgia (Castellbisbal). Se pueden encontrar también cinco incineradoras que queman residuos sólidos urbanos, al igual que también se puede encontrar a la única planta de España que quema residuos tóxicos y peligrosos, en Constantí (Greenpeace, 2008).

En este sentido, Bellas, en 2011, indica que la mayor disminución de PCBs en el medio marino se produjo tras la prohibición de su producción en los años 80, mostrando a partir del año 2000 una estabilización en el tiempo.

5. Valoración ecotoxicológica de los niveles de PCBs.

Para realizar esta valoración se llevó a cabo una comparación de los niveles de PCBs encontrados en salmonete, con los valores de EAC descritos en la bibliografía para estos compuestos. Los criterios de evaluación ambiental (EACs Environmental Assessment Criteria) se han definido como aquellas concentraciones de contaminantes en biota y sedimento por debajo de las cuales no se espera que existan efectos tóxicos crónicos sobre las especies marinas, incluyendo aquellas especies más sensibles a los contaminantes. Cualquier concentración por debajo de ellas debe suponer un riesgo mínimo para el medio ambiente. Estos valores están en continua revisión, a la luz de nuevos datos sobre la toxicidad y los efectos de los contaminantes marinos. En la mayor parte de los casos, se han adoptado los EACs, que han sido definidos dentro de OSPAR (Convenio sobre la protección del medio marino del Atlántico Nordeste), utilizando los datos toxicológicos disponibles (Campillo et al., 2007).

Para los PCBs se han definido una serie de valores EACs aplicables a peces, concretamente a cada uno de los 7 congéneres de PCBs propuestos por ICES (OSPAR, 2000) (Tabla 6):

Tabla 6: Criterios ecotoxicológicos definidos por OSPAR para los concentraciones de diferentes congéneres de PCBs en peces.

PCBs	Tejido de pez. µg/kg lípido
PCB-28	64*
PCB-52	108*
PCB-101	120*
PCB-105	-
PCB-118	24*
PCB-138	316*
PCB-153	1600*
PCB-156	-
PCB-180	480*

*OSPAR Commission 2000

Las concentraciones medias de los congéneres 28, 52 y 153 en los salmonetes de fango no superan los EACs en ninguna de las estaciones muestreadas, por lo que a priori, se puede considerar que la presencia de estos congéneres no entrañan ningún riesgo importante sobre la biota marina. En el caso del congénere 101, el valor medio en Barcelona es de 144.57 µg/kg lípido (Tabla 5), por lo que supera el valor determinado por OSPAR (Tabla 6). El PCB-101 no supera los EAC en el resto de zonas muestreadas y, por tanto, no existe riesgo importante sobre la vida marina. Para el PCB-138, en Barcelona, se obtiene un valor de 734.35 µg/kg lípido (Tabla 5) que supera con bastante margen el límite marcado por OSPAR (Tabla 6).

Lo mismo ocurre para el congénere 180 en Barcelona y en el Delta del Ebro donde se obtienen concentraciones medias de 744.14 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en lípido y 509.94 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en lípido (Tabla 5), respectivamente, que superan los valores propuestos como EAC para este compuesto (Tabla 6). Por último, el congénere número 118, del cual se obtienen valores que superan los límites marcados por la comisión OSPAR en todas las zonas muestreadas, con excepción de Palma de Mallorca (20.60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en lípido) (Tabla 5).

6. Comparativa con los niveles ambientales obtenidos en otras áreas geográficas.

Los resultados obtenidos se han comparado con los niveles publicados por otros estudios en el Mediterráneo y otras zonas. Debido a la variabilidad en la forma de expresar los datos que existe en la bibliografía, en la Tabla 7 se recogen los datos obtenidos en este trabajo expresados en peso fresco, lo que facilita la comparación con las concentraciones obtenidas por otros autores. En la Tabla 8 se recopilan los datos de concentración obtenidos en salmonete de fango en otras zonas del mundo de acuerdo con la bibliografía consultada.

Tabla 7: Estadísticos descriptivos (Valores medios \pm desviación típica, $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ en peso fresco) de contaminantes clorados analizados en este estudio en músculo de salmonete de fango.

	Aldrin	pp DDD	pp DDE	ΣDDXs	ΣPCBs	HCB
BARCELONA	0,68 \pm 0.57	1,37 \pm 0.76	29,95 \pm 20.34	32,36\pm21.10	87,82\pm53.41	0,13 \pm 0.06
TARRAGONA	0,15 \pm 0.08	0,17 \pm 0.15	3,45 \pm 2.26	3,94\pm2.52	11,71\pm7.18	0,07 \pm 0.06
DELTA DEL EBRO	0,10 \pm 0.06	1,55 \pm 1.55	5,73 \pm 4.0	8,46\pm6.66	17,66\pm12.86	0,07 \pm 0.05
VALENCIA	0,21 \pm 0.21	0,51 \pm 0.70	4,77 \pm 3.46	5,52\pm3.75	31,53\pm55.14	0,13 \pm 0.08
SANTA POLA	0,14 \pm 0.07	0,28 \pm 0.45	3,14 \pm 1.58	3,57\pm1.52	8,95\pm5.05	0,10 \pm 0.05
PALMA DE MALLORCA	0,31 \pm 0.33	0,11 \pm 0.04	3,23 \pm 1.21	3,96\pm2.19	12,93\pm9.14	0,16 \pm 0.06

Las concentraciones del sumatorio de PCBs detectadas en nuestro estudio en el Delta del Ebro (17.66 $\mu\text{g}/\text{kg}$ peso fresco) (Tabla 7), son similares a los que encontró Pastor en el año 1996 en salmonetes de esa misma zona (Tabla 8). Un estudio realizado por J.A. Campillo este año, determinó la concentración de varios de estos compuestos en salmonetes de fango muestreados en el litoral de Cartagena. La concentración de HCB (0.09 $\mu\text{g}/\text{kg}$ peso fresco) (Tabla 8) fue similar a la obtenida en nuestro estudio (Tabla 7) en la zona del Delta del Ebro. La concentración del lindano, para el estudio de Campillo (11 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en lípido) (Tabla 8), proporciona valores próximos a los obtenidos en este trabajo en una zona industrial como Tarragona (12,60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ lípido). Para el sumatorio de los 7 PCBs, se obtuvo un valor de 2712 $\mu\text{g}/\text{kg}$ lípido (Tabla 8), un valor que se haya comprendido entre 3599.31 $\mu\text{g}/\text{kg}$ lípido (Barcelona) (Tabla 5) y 1803.03 $\mu\text{g}/\text{kg}$ lípido (Delta del Ebro) (Tabla 5), es decir, una concentración relativamente elevada que refleja la presencia de aportes de tipo industrial en el litoral de Cartagena.

Tabla 8: Estadísticos descriptivos (Valores medios, $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ en peso fresco o en contenido lipídico, según se indique) de algunos compuestos analizados, por otros autores en otros estudios, necesarios para comparar con los valores recogidos en este proyecto; <LD= datos por debajo del límite de detección.

Zona muestreada	Referencia	ΣDDTs $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ en peso fresco	ΣPCBs $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ en peso fresco	HCB $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ en peso fresco	Aldrin $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ en peso fresco	DDE $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ en peso fresco	DDD $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ en peso fresco	Lindano $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ en lípido	ΣPCBs $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ en lípido	PCB 28 $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ en lípido	PCB 52 $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ en lípido	PCB 101 $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ en lípido	PCB 138 $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ en lípido	PCB 153 $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ en lípido	PCB 180 $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ en lípido
Delta del Ebro	Pastor et al., 1996	16,81	20,32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cartagena	Campillo et al., 2016	-	-	0,09	-	-	-	11	2712	-	-	-	-	-	-
Turquía Este (Mar Egeo)	Kucuksezgin et al., 2001	-	-	-	0,26	14,44	1,94	-	-	-	-	-	-	-	-
Grecia (Mar Egeo)	Vassilopouou et al., 1993	9,1-17,6	5,8-19,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bulgaria (Mar Negro)	Stancheva et al., 2016	-	-	-	-	-	-	-	-	16,2-19,9	<LD	<LD	25,3-43	46,2-87,7	28,0-37,0
Italia (Mar Adriático)	Bayarri et al., 2001	9,8	22,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Italia (Apulia)	Guerranti et al., 2016	44,01-58,03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Italia (Toscana)	Guerranti et al., 2016	37,09-38,91	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Italia (Emilia Romana)	Guerranti et al., 2016	31,32-44,64	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Italia (Véneto)	Guerranti et al., 2016	31,18-53,04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Por otro lado, los niveles de aldrin obtenidos en este estudio en las zonas de Valencia (0.21 $\mu\text{g}/\text{kg}$ peso fresco) o Palma de Mallorca (0.31 $\mu\text{g}/\text{kg}$ peso fresco) (Tabla 7) son similares a los detectados en salmonetes del Mar Egeo (Kucuksezgin et al., 2001), donde el aldrin alcanzó una concentración de 0.26 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en peso fresco (Tabla 8). En el caso del DDT y de sus metabolitos, se observa una mayor exposición de los peces del Mar Egeo a estos compuestos que los del litoral mediterráneo español. Así el *pp'*-DDD tuvo unos valores que oscilaron en torno a 1.94 $\mu\text{g}/\text{kg}$ peso fresco y el *pp'*-DDE en torno a 14.44 $\mu\text{g}/\text{kg}$ peso fresco (Tabla 8). De hecho, en 1993, Vassilopoulou encontró niveles de DDTs (ΣDDXs) comprendidos entre 9.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y 17.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ peso fresco en peces del Mar Egeo (Tabla 8). Estos valores son superiores a los obtenidos en el Delta del Ebro (ΣDDTs = 8.46 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en peso fresco) y solo inferiores a los obtenidos en Barcelona (ΣDDTs = 32.36 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en peso fresco) (Tabla 7). En el caso de los PCBs, estos mismos autores (Vassilopoulou et al., 1993) encontraron concentraciones que oscilaron entre 5.8 y 19.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en peso fresco (Tabla 8). Este intervalo de concentraciones de PCBs es similar al obtenido en este estudio, considerando todas las zonas de muestreo (8.95-17.66 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en peso fresco) con excepción de Barcelona (87.82 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en peso fresco) y Valencia (31,53 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en peso fresco) (Tabla 7), que siguen siendo muy elevadas.

Un estudio realizado por Stancheva en 2016, en el Mar Negro, proporciona la siguiente concentración de PCBs: ΣPCB = 187.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ lípido (Tabla 8), un valor bastante inferior a los recogidos en este estudio (Tabla 5).

Finalmente, un último estudio realizado por Guerranti en 2016, muestra los niveles de DDTs en varias zonas de Italia. En las zonas de la Toscana y Emilia Romana se obtuvieron valores comprendidos entre 31.18 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y 44.64 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en peso fresco (Tabla 8), superiores a los obtenidos en este estudio para zonas del mediterráneo español (3.57-32.36 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en peso fresco) (Tabla 7). De hecho, en la zona de la Apulia italiana (Zona comprendida entre el Mar Adriático y el Mar Jónico) se registró un valor máximo para el sumatorio de DDTs de 58.03 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en peso fresco (Tabla 8), valor que supera con creces los obtenidos en este estudio (Tabla 7). Estos datos reflejan el uso masivo que se hizo de estos pesticidas en estas regiones con una importante agricultura.

7. Conclusiones.

Las zonas industriales, como pueden ser Barcelona o Tarragona y la zona del Delta del Ebro, presentan valores de concentración de contaminantes relativamente elevadas, debido, en gran parte, a la fuerte presión industrial y agrícola que soportan estas áreas desde hace muchos años. Estos niveles afectan de manera clara a la calidad y salud de los ecosistemas marinos. En lugares como Barcelona, los niveles de concentración de estos contaminantes superan los criterios de evaluación ambiental (EAC), es decir, que estos contaminantes aún mantienen en dicha zona, un potencial de efectos biológicos adversos sobre los organismos marinos. En Barcelona, tanto el congénere 101 (144.58 µg/kg en lípido) (Tabla 5), como el 138 (734.35 µg/kg en lípido) (Tabla 5), como el 180 (744.14 µg/kg en lípido) (Tabla 5), superan los límites que encontramos en la tabla 6 (EACs). En la zona del Delta del Ebro, se puede encontrar el congénere nº180 (509.94 µg/kg en lípido) (Tabla 5), cuya concentración también supera los EAC. Al finalizar este estudio y al observar los datos obtenidos, se puede confirmar que algunas zonas como pueden ser Palma de Mallorca, Santa Pola o Valencia presentan menores concentraciones de contaminantes orgánicos persistentes que Barcelona, Tarragona o la zona del Delta del Ebro.

En lo referente a los PCBs se observa que los niveles permanecen estables con otros estudios realizados con anterioridad en algunas de las zonas que se han muestreado. Por lo que nuestros resultados, al igual que indica Bellas et al. (2011), confirman que existió una rápida disminución inicial de los niveles ambientales de los PCBs tras la prohibición de su producción en los años 80, pero que a partir del año 2000 sus niveles permanecen relativamente estables en el Mediterráneo.

En el caso de los pesticidas clorados el más abundante fue el DDT y sus metabolitos (DDXs) (Tabla 4). Los mayores niveles se encuentran en Barcelona y en la estación situada frente al Delta del Ebro. En este último caso los niveles de DDT en comparación con los niveles de sus metabolitos indica la existencia de aportes recientes, lo que ha sido corroborado por otros estudios. De acuerdo con los datos obtenidos, estos aportes recientes de insecticidas organoclorados también se habrían realizado en Valencia y en la bahía de Santa Pola (Figura 3). De la misma manera, observando la cantidad de DDT metabolizado anaeróticamente en DDD (Figura 3) en comparación con el resto de metabolitos, pone en evidencia aquellas zonas que tienen una gran tradición en agricultura (Valencia, Tarragona y Palma de Mallorca).

Los demás insecticidas analizados (hexaclorobenceno (HCB), aldrin, isodrin, trans-nonachlor (t-NNC), endrin, dieldrin, α -HCH (alpha-Hexaclorociclohexano) y lindano (gamma-Hexaclorociclohexano)) tienen concentraciones más bajas (Tabla 5), debido a que su persistencia es menor y a las prohibiciones sobre su uso por su elevada toxicidad. Cabe destacar el caso del lindano, que no se detectó en ninguna estación, debido a la eliminación de su uso en actividades industriales y agrícolas en las zonas en las que antes predominaba.

Comparativamente, los niveles de concentración de contaminantes obtenidos en el litoral mediterráneo español, en este estudio, son similares a los obtenidos en otras zonas de Grecia (Vassilopoupou et al., 1993) o Turquía (Mar Egeo) (Kucuksezgin et al., 2001), pero superiores a los obtenidos en Bulgaria en algunas zonas del Mar Negro (Stancheva et al., 2016). También hay que destacar que los valores de concentración que se han obtenido son inferiores a los obtenidos por otros estudios en algunas zonas de Italia (Mar Adriático y Mar Jónico) dónde la concentración de contaminantes es bastante más elevada (Guerranti et al. 2016).

Este trabajo demuestra que los compuestos orgánicos persistentes (COPs) deben ser considerados para evaluar la calidad ambiental del medio marino, dada la elevada presencia que tienen. Aun con las regulaciones y prohibiciones adoptadas en los años 70-80 sobre el uso y producción de este tipo de compuestos, se necesitarán décadas para observar una clara disminución en su concentración debido a su persistencia y a la existencia, aún hoy día, de vertidos de este tipo de contaminantes.

Agradecimientos.-

Me gustaría agradecer al Dr. Juan Antonio Campillo, al Dr. Víctor García y a D. Daniel Pardo del Instituto Español de Oceanografía (IEO), Centro Oceanográfico de Murcia, por toda la ayuda recibida para la realización de este trabajo.

8. Bibliografía.

Addison, R.F., 1982. Organochlorine compounds and marine lipids. *Prog. Lipids Res.* 21, 47–71.

Beiras, R., Durán, I., Bellas, J., Sánchez-Marín, P., 2012. Biological effects of contaminants: *Paracentrotus lividus* sea urchin embryo test with marine sediment elutriates. *ICES Tech. Mar. Environ. Sci.* 51, 13 pp.

Benedicto J, Campillo JA, Fernández B, Martínez-Gómez C, León VM (2012). Estrategia marina. Demarcación Levantino-Balear. Parte IV. Descriptores del buen estado ambiental. Descriptor 8: contaminantes y sus efectos. Evaluación inicial y buen estado ambiental. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Madrid, 110 pp.

Bergman, A., Klasson-Wehler, E., Kuroki, H., 1994. Selective retention of hydroxylated PCB metabolites in blood. *Environ. Health Persp.* 102, 464–469

Carson, R. (1962). *Silent Spring*. 1st Pub. Houghton Mifflin, Mariner Books.

Della Torre, C., Corsi, I., Nardi, F., Perra, G., Tomasino, M.P., Focardi, S., 2010. Transcriptional and post-transcriptional response of drug-metabolizing enzymes to PAHs contamination in red mullet (*Mullus barbatus*, Linnaeus, 1758): a field study. *Marine Environmental Research* 70, 95101

Diamond, M.L., Melymuk, L., Csiszar, S.A., Robson, M. (2010). Estimation of PCB stocks, emissions, and urban fate: will our policies reduce concentrations and exposure. *Environmental Science & Technology*, 44(8), 2777–2783.

EEA. (1999). State and Pressures of the Marine and Coastal Mediterranean Environment. Papathanassiou E, Gabrielidis GP (eds.). European Environment Agency. Environmental Assessment Series n°5. 137pp.

European Environment Agency, EEA, 2006. Priority Issues in the Mediterranean Environment. EEA Report No 4 (ISSN 1725–9177, 92 pp.).

FAO/UNEP, 1993. Report of the FAO/UNEP/IAEA. Training workshop on the design of monitoring programmes and management of data concerning chemical contaminants in marine organisms, Athens, Greece, 22–26, pp. 247.

Fernández MA, Alonso C, González MJ, Hernández LM. Occurrence of organochlorine insecticides, PCBs and PCB congeners in waters and sediments of the Ebro River (Spain). *Chemosphere* 1999;38:33–43.

Froese, R., Pauly, D. (Eds.), 2012. FishBase. Available at: <http://www.fishbase.org>

GESAMP, (1989). The atmospheric input of trace species to the world ocean. Joint Group of experts on the Scientific Aspects of Marine Pollution. Report and Studies n°38. 124pp.

Gómez-Gutiérrez, A.I., Jover, E., Bodineau, L., Albaigés, J., Bayona, J.M. 2006. Organic contaminant loads into the Western Mediterranean Sea: Estimate of Ebro River inputs, *Chemosphere* 65(2): 224-236.

Grinwis, G.C.M., Besselink, H.T., van der Brandhof, E.J., Bulder, A.S., Engelsma, M.Y., Kuiper, R.V., Wester, P.W., Vaal, M.A., Vethaak, A.D., Vos, J.G., 2000. Toxicity of TCDD in European flounder (*Platichthys flesus*) with emphasis on histopathology and cytochrome P450 1A induction in several organ systems. *Aquat. Toxicol.* 50, 387–401

Guerranti, C., Focardi, S.E., 2011. Differences in POP levels between conventional and Omega-3 fatty acid-enriched milk and dairy products. *ISRN Toxicol.*, 541694 <http://dx.doi.org/10.5402/2011/541694> (7 pp.).

Hites, R.K., Day, H.R. (1992). Unusual persistence of DDT in some Western USA soils. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 48, 259–264.

Insausti, D., Carrassón, M., Maynou, F., Cartes, J.E., Solé, M., 2009. Biliary fluorescent aromatic compounds (FACs) measured by fixed wavelength fluorescence (FF) in several marine fish species from the NW Mediterranean. *Marine Pollution Bulletin* 58, 1635-1642.

Jacobson, J.L., Humphrey, H.E.B., Jacobson, S.W., Schantz, S.L., Mullin, M.D., Welch, R., 1989. Determination of polychlorinated biphenyls (PCBs), polybrominated biphenyls (PBBs), and dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) levels in the sera of young children. *Am. J. Publ. Health* 79, 1401–1404.

Kawai, S., Fukushima, M., Miyazaki, N., Tatsukawa, R., 1988. Relationship between lipids composition and organochlorine levels in the tissues of striped dolphin. *Mar. Pollut. Bull.* 19, 129–133.

Kucuksezgin F. and Balci A. (1994) Heavy metal concentrations in selected organisms from Izmir Bay, Turkey. *Mar. Pollut. Bull.* 28(5), 333–335.

Kucuksezgin, F., Gonul, L.T., 2012. Distribution and ecological risk of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in surficial sediments from the Eastern Aegean. *Mar. Pollut. Bull.* 64, 2549–2555.

Macgregor, K., Oliver, I.W., Harris, L., Ridgway, I.M. (2010). Persistent organic pollutants (PCB, DDT, HCH, HCB & BDE) in eels (*Anguilla anguilla*) in Scotland: current levels and temporal trends. *Environmental Pollution*, 158(7), 2402–2411.

Martínez-Gómez, C., Fernández, B., Benedicto, J., Valdés, J., Campillo, J.A., León, V.M., Vethaak, A.D., 2012. Health status of red mullets from polluted areas of the Spanish Mediterranean coast, with special reference to Portmán (SE Spain). *Mar. Environ. Res.* 77, 50e59.

- McManus, G.B., Wyman, K.D., Peterson, W.T., Wurster, C.F., 1983. Factors affecting the elimination of PCB in marine copepod *Acartia tonsa*. *Estuar. Cost. Shelf Sci.* 17, 421–430
- Miramand, P., Lafaurie, M., Fowler, S.S., Lemaire, P., Guary, J.C., Bentley, D., 1991. Reproductive cycle and heavy metals in the organs of red mullet, *Mullus barbatus* (L.), from the northwestern Mediterranean. *Sci. Total Environ.* 103, 47e56.
- Morrisey, D.J., Turner, S.J., Mills, G.N., Williamson, R.B., Wise, B.E., 2003. Factors affecting the distribution of benthic macrofauna in estuaries contaminated by urban runoff. *Marine Environmental Research* 55, 113–136.
- Nuro, A., Lazo, P., Koci, K., Marku, E. (2008). PCA statistical method for interpretation of levels and distribution of PCB, DDT and HCH in fish and marine food samples from Adriatic Sea. *BALWOIS 2008-Ohrid. Repub. Macedonia* 27, 1–12.
- OSPAR Commission. (1997). Agreed Ecotoxicological Assessment Criteria for Metals, PCBs, PAHs, TBT and Some Organochlorine Pesticides. OSPAR 97/15/1. OSPAR Commission, London.
- OSPAR Commission. (2010). JAMP Guidelines for Monitoring Contaminants in Biota. Update 2010 (Agreement 1999-02). OSPAR Commission, London.
- Pastor, D., Boix, J., Fernández, V., Albaige 's, J., 1996. Bioaccumulation of organochlorinated contaminants in three estuarine fish species (*Mullus barbatus*, *Mugil cephalus* and *Dicentrarchus labrax*). *Mar. Pollut. Bull.* 32, 257–262.
- Perugini, M., Cavaliere, M., Giammarino, A., Mazzone, P., Olivieri, V., Amorena, M. (2004). Levels of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in some edible marine organisms from the Central Adriatic Sea. *Chemosphere*, 57, 391–400.
- PIDDOCK, C., 2009. *Rachel Carson: A Voice for the Natural World*. S.I.: Gareth Stevens. ISBN 978-1-4339-0058-7.
- Porte, C., Albaigés, J., 1993. Bioaccumulation patterns of hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in bivalves, crustaceans, and fishes. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 26, 273–281.
- Rivas, A., Fernandez, M.F., Cerrillo, I., Ibarluzea, J., Olea-Serrano, M.F., Pedraza, V., Olea, N., 2001. Human exposure to endocrine disruptors: standardisation of a marker of estrogenic exposure in adipose tissue. *APMIS* 109, 185–197.
- Roberts, D.A., Johnston, E.L., Poore, A.G.B., 2008. Contamination of marine benthic habitats and effects upon associated epifauna. *Marine Pollution Bulletin* 56, 1057–1065.
- Safe, S. (1995). Modulation of gene expression and endocrine response pathways by 2378-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and related compounds. *Pharmacology & Therapeutics*, 67(2), 247-281.

- Solé, M., Rodríguez, S., Papiol, V., Maynou, F., Cartes, J.E., 2009. Xenobiotic metabolism markers in marine fish with different trophic strategies and their relationship to ecological variables. *Comparative Biochemistry and Physiology C* 149, 83–89.
- Stancheva M., Georgieva S., Makedonski L., 2016. Polychlorinated biphenyls in fish from Black Sea, Bulgaria. Department of Chemistry, Medical University.
- UNEP/RAMOGÉ, 1999. Manual on the biomarkers recommended for the MED POL biomonitoring programme. UNEP, Athens, Greece, pp. 39
- UNEP/WHO, 2003. Second Report on the pollution hot spots in the Mediterranean—Part II—Revised Country Reports. Meeting of the MED POL National Coordinators, Sangemini, Italy (27–30 May 2003. UNEP(DEC)MED WG.231/5b).
- UNEP. (2005). Fact sheets on marine pollution indicators. Meeting of the MED POL National Coordinators. UNEP (DEC)/MED/WG.264/Inf.14. 11 24-27 Mayo 2005. Barcelona. España.
- Van der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N.P.E., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environment risk assessment: a review. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 13, 57–149.
- Vassilopoulou, V. & Papaconstantinou, C. (1993). Feeding habits of red mullet (*Mullus barbatus*) in a gulf of central Greece. *Fish Res.*
- Vos, J.G., Dybing, E., Greim, H.A., Ladefoged, O., Lambre, C., Tarazona, J.V., Brant, I., Vethaak, A.D. (2000). Health effects of endocrine-disrupting chemicals on wildlife, with special reference to the European situation. *Critical Reviews in Toxicology*, 30, 71–133.
- Walters, G.W., Aitken, N.D. (2001). Surfactant-enhanced solubilization and anaerobic biodegradation of 1, 1, 1-trichloro-2, 2-bis (p-chloro-phenyl)-ethane (DDT) in contaminated soil. *Water. Environ. Res.* 73, 15–23.
- Williams, C., 1996. Combating marine pollution from land-based activities: Australian initiatives. *Ocean & Coastal Management* 33, 87–112.
- Zorita, I., Apraiz, I., Ortiz-Zarragoitia, M., Orbea, A., Cancio, I., Soto, M., Marigómez, I., Cajaraville, M.P., 2007. Assessment of biological effects of environmental pollution along the NW Mediterranean Sea using mussels as sentinel organisms. *Environmental pollution* 148, 236–250.
- Zorita, I., Ortiz-Zarragoitia, M., Apraiz, I., Cancio, I., Orbea, A., Soto, M., Marigómez, I., Cajaraville, M.P., 2008. Assessment of biological effects of environmental pollution along the NW Mediterranean Sea using red mullets as sentinel organisms. *Environmental pollution* 153, 157–168.

9. Anexo I. Procedimiento químico en el laboratorio.

A continuación se expone el procedimiento que ha sido necesario realizar en el laboratorio para la determinación de las concentraciones de los compuestos organoclorados en *Mullus Barbatulus*.

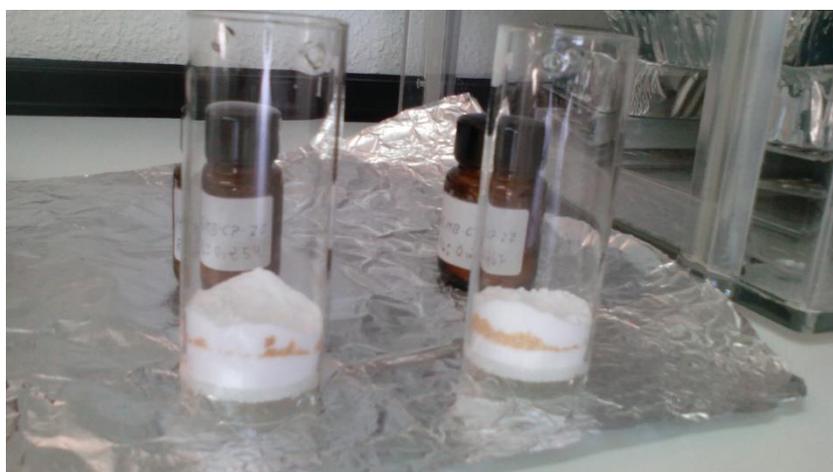
Previo a los análisis correspondientes se diseccionó el músculo dorsal de cada ejemplar. Las muestras fueron sometidas a un proceso de liofilización. Una vez liofilizados los tejidos fueron triturados usando un molino de bolas de ágata hasta hacerse un polvo homogéneo. Serán necesarios dos días para cada serie de muestras analizadas.

9.1. Día 1.

Previo a la preparación de la muestra, será necesario preparar sulfato sódico, el cual se somete a unos 400°C durante 24 horas para conseguir una mejor conservación. Para poder utilizarlo se lleva a la mufla durante 4 horas para que pierda la humedad que posee.

Se procede a la preparación de las muestras utilizando, para cada una de ellas, su correspondiente cápsula porosa. Se verterá una cucharada de sulfato sódico en la cápsula, se tara y se verterá 1 gramo de la muestra de salmonete triturada sobre la capa de sulfato sódico, anotando el peso de la misma, finalmente se cubre con otra cucharada de sulfato sódico (Figura 6).

Figura 6: Cápsula porosa con sulfato sódico y la muestra liofilizada y molida de *Mullus Barbatulus*.



Por otro lado, se elaborará una mezcla de pentano y diclorometano a razón de 1:1. Se verterán 150 ml de dicha mezcla en balones esmerilados que se utilizarán para la extracción de la muestra. Se añadirá también un pedazo de cerámica para conseguir una ebullición homogénea. Tras ello, se realizará el montaje de los extractores Soxhlet, comprobando siempre que las juntas estén bien ajustadas y sin excesiva tensión (Figura 7). Se comprobará que el agua de los baños extractores se encuentre en torno a 48-50°C. Dejar extraer la muestra durante 7 horas a la temperatura mencionada.

Figura 7: Extractor Soxhlet con balón esmerilado ajustado sobre baño calefactor. En el interior del Soxhlet se encuentra la cápsula porosa con la muestra y el sulfato sódico.



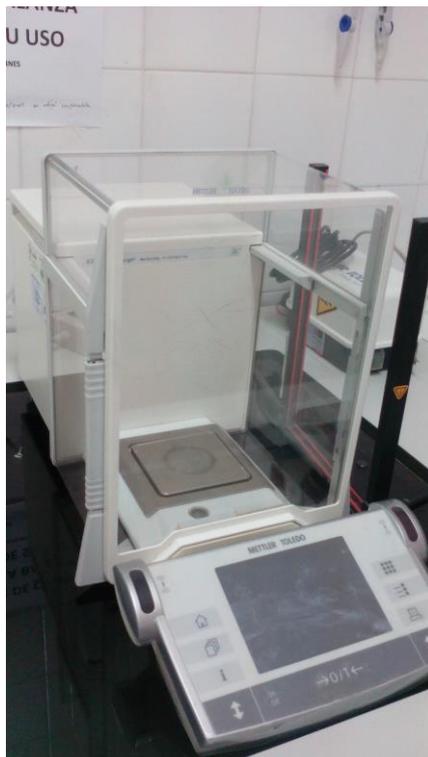
Será necesario incluir un *blanco* en cada serie de extracciones. Para ello se realizará el mismo procedimiento que el descrito anteriormente pero sin muestra, y posteriormente, se someterá también al mismo proceso que las demás.

Será necesario preparar las columnas de Alúmina y de Sílica que se utilizarán al día siguiente. La alúmina se conserva mejor sin humedad, para ello se somete a 400°C durante 4 horas, que permiten obtener unos 200 gramos de alúmina activada. Para la preparación de la columna de alúmina, será necesario desactivarla, añadiendo un poco de agua destilada para que aumente su humedad. Se añadirán unos 3,9 gramos de agua destilada por cada 61 gramos de alúmina. Para la sílica es necesario aplicarle 210°C durante 16 horas para conseguir una mejor conservación. Para desactivarla, al igual que ocurre con la alúmina, se añadirá 1.51 gramos de agua destilada por cada 51 gramos de sílica.

9.2. Día 2.

Tras las 7 horas de extracción en los Soxhlet, se desmontan los extractores y se obtiene la mezcla de pentano y diclorometano tras realizar la extracción de la muestra. De cada uno de los balones esmerilados se extraen 10 ml que van a unas placas numeradas las cuales han sido pesadas previamente. Tras verter los 10 ml se llevan las placas a un horno donde se dejan a 50°C durante 24 horas, de tal forma que cuando sequen, se obtendrá el peso de la grasa del *Mullus Barbatulus* analizado y por consiguiente, su porcentaje de grasa, necesario para realizar la conversión de unidades. El pesado de dichas placas se realizó en una balanza Mettler Toledo (Figura 8).

Figura 8: Balanza Mettler Toledo.



El resto de extracto que se encuentra en los balones esmerilados, se pasará por la columna de Alúmina. Previamente es necesario medir el volumen de mezcla que contienen dichos balones. Después se le añaden 5 ml de isooctano, se lleva la mezcla al rotavapor durante unos 5-10 minutos, de tal forma que se reduzca y concentre hasta los 2-3 ml. Se vierte el contenido en una probeta más pequeña y se rellena con pentano hasta alcanzar los 10 ml.

La preparación de la columna de Alúmina requiere de lana de vidrio, que hace de filtro en la parte inferior de la columna. A continuación se vierte pentano junto con 15 gramos de la alúmina desactivada, más una cucharada de sulfato sódico que termine de conformar el filtro por el que se va a pasar el extracto (Figura 9).

Una vez el filtro está enrasado con el sulfato sódico y la alúmina, se vierte la mezcla y se añaden 200 ml de pentano para conseguir un mejor filtrado que retenga la grasa de la muestra inicial (Figura 10). Se añade un poco de isooctano (2-3 ml) para evitar que el filtro quede muy seco. Tras ello, se lleva la mezcla ya filtrada al rotavapor para que vuelva a reducir hasta alcanzar unos 2-3 ml. Se añade isooctano hasta alcanzar unos 7 ml de mezcla y se lleva a la campana de extracción para reducir con una corriente de nitrógeno gaseoso (Figura 11) hasta tener 2 ml.

Figura 9: Columna de Alúmina. Se puede observar el filtro compuesto por alúmina, pentano y sulfato sódico.



Figura 10: Columnas de Alúmina dónde se puede ver cómo la grasa de la muestra inicial (*Mullus Barbatus*) queda retenida en el filtro.

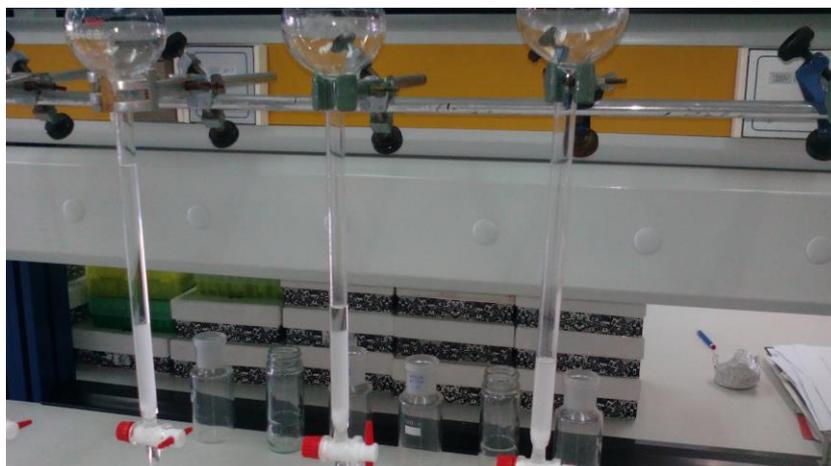


Figura 11: Reducción de la mezcla con corriente de nitrógeno (gas) en una campana de extracción. Se podrán reducir unas 4 muestras por serie de extracción.



Ahora será necesario preparar el siguiente filtrado. Para la preparación de la columna de Sílica, se añade 1.6 gramos de sílica junto con isooctano hasta conformar el filtro (Figura 12), tras ello se añaden los 2 ml de mezcla obtenidos. Se añaden 10 ml más de isooctano para conseguir un mejor filtrado. Cuando la mezcla ha bajado, se retira el tubo y se reserva (1ª Fracción). Posteriormente se preparan 10 ml de una mezcla a 8:2 (v:v) de isooctano-dietiléter que, de la misma manera, se hará pasar por la columna de sílica (2ª Fracción).

Figura 12: Filtro de sílica con isooctano.



Se llevan las mezclas (1ª y 2ª Fracción) a evaporar con corriente de nitrógeno (gas) hasta que los tubos queden completamente secos. Se llevan los tubos a la balanza Mettler Toledo y se añaden 4 microlitros del patrón de referencia PCB 155, más 1 ml de isooctano. Ambas cantidad se pesarán y se anotarán. Finalmente se guardan las mezclas en viales (Figura 13) y se envían a pinchar al Cromatógrafo de Gases.

Figura 13: Se vierte la mezcla resultante en viales que se enviarán al Cromatógrafo de Gases para obtener las concentraciones de contaminantes: PCBs (1ªFracción) y DDTs (2ªFracción).

