

Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en mejillón verde (*Perna viridis*) de la Bahía de Cienfuegos

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in green mussel of the Bay of Cienfuegos

Luisa Vega Bolaños,¹ Roberto Castelo Baez,² José A. Arias Verdes³ y Ramón Sersa Espinosa¹

¹ Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos (INHA),
E-mail: Luisaofe@yahoo.es

² Centro de Investigaciones Pesqueras. Ave. 5ta. y calle 246, Santa Fe, Playa,
La Habana, Cuba, CP 19100, Teléfono: (537) 209-7852

³ Centro de Ingeniería y Manejo Ambiental de Bahías y Costas (CIMAB)

RESUMEN

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) son contaminantes alimentarios y su toxicidad se debe a que algunos de ellos son conocidos cancerígenos humanos, clasificados en el grupo dos de la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC). La determinación de los niveles de estas sustancias en los alimentos, especialmente en productos de la pesca, se ha incrementado en los últimos años por diversas causas. El objetivo de este estudio fue la determinación de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en mejillones (*Perna viridis*) de la Bahía de Cienfuegos, 50 especímenes de mejillón con dimensiones entre 80-100 mm de largo antero-posterior de concha, se homogeneizaron y se tomó una muestra de 5 g de peso fresco, se trataron con n-hexano y saponificaron con KOH-metanol, las fracciones obtenidas fueron concentradas y purificadas en columna de sílice-alúmina; y analizadas mediante Cromatografía Gaseosa con detector de ionización de llama, utilizando surrogados y estándar interno isotópicos para la cuantificación. Se detectaron 14 HAPs y la concentración total de HAPs en los mejillones fue de 1 171,90 µg/kg (peso fresco), correspondiéndole los valores más altos a: fenantreno (264,01 µg/kg), fluoranteno (246,59 µg/kg) y criseno (148,19 µg/kg), en tanto los valores de benzo(a)pireno fueron de 25,88 µg/kg, valor este muy superior al límite máximo permitido de este compuesto en moluscos bivalvos (10 µg/kg peso fresco). Estos resultados indican una alta contaminación en HAPs en la zona de estudio, lo cual debe estar influenciado por la urbanización/industrialización de las costas de esta bahía.

Palabras clave: HAPs, mejillón verde, fenantreno, fluoranteno, criseno y benzo(a)pireno.

ABSTRACT

Polycyclic Aromatic hydrocarbons (PAHs) are polluting alimentary and their toxicity is due to that some of them are known cancerogenic human, classified in two groups of the International Agency of Investigation on the Cancer (IARC). The determination of the levels of these substances in foods, especially in products of the fishing, it has been increased in the last years by diverse causes. The objective of this study was the determination of the PAHs in mussels of Bay Cienfuegos, 50 mussels specimens with dimensions among 80-100 mm of long, they were homogenized and I take a sample of 5 g of fresh weight they talked to n-hexano and saponification with KOH-methanol, the obtained fractions were concentrated and purified in silica-alumina column; and determined by gas chromatography with detecting of flame ionization, using surrogates and standard internal isotopic for the quantification. 14 PAHs and the total concentration of PAHs were detected in the mussels it was of 1 171,90 µg/kg, corresponding him the highest values to; phenanthrene (264,01 µg/kg), fluoranthene (246,59 µg/kg) and chrysene (148,19 µg/kg), as long as the benzo(a)pyrene values were of 25,88 µg/kg, value this very superior one to the allowed maximum limit of this compound in bivalve molluscs (10 µg/kg fresh weight). These results indicate a high contamination with PAHs, which should be influenced by the urbanization/industrialization of the costs of this bay.

Keywords: PAHs, green mussel, phenanthrene, fluoranthene, chrysene and benzo(a)pyrene.

INTRODUCCIÓN

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) son moléculas de dos o más anillos aromáticos fusionados, de baja solubilidad en agua y elevada en disolventes orgánicos y con reconocida capacidad mutagénica y carcinogénica, siendo el benzo(a)pireno (BaP) el más conocido y estudiado (Marce & Borrull, 2000). Su presencia en la atmósfera, suelo, sedimentos, plantas y animales marinos hace que la exposición del hombre a los mismos sea inevitable (Bories, 1990; Iniesta & Blanco, 2005). Su amplia distribución en el medio ambiente y la utilización de ciertas técnicas durante el procesado y la conservación de alimentos, hace que estos contaminantes estén presentes en los alimentos a niveles traza (Lijinsky, 1991), siendo su extracción, purificación y análisis, difílcitosos (Guillen & Sopelana, 2004).

Las fuentes naturales y antropogénicas más frecuentes de HAPs son: la combustión espontánea o provocada (incendios), las erupciones volcánicas, la producción industrial de energía, las calefacciones domésticas, el tráfico, la conservación de la madera, la destrucción de la paja tras la cosecha de los cereales, etc. (Antón & Lizaso, 2001; Bosveld *et al.*, 2000).

Los HAPs son considerados cancerígenos alimentarios potenciales desde 1950 cuando se observó una elevada incidencia de cáncer de estómago en poblaciones que consumían apreciables cantidades de productos ahumados. Desde entonces, en la población general no fumadora, la ingesta dietética ha sido identificada como la principal ruta de exposición a los HAPs (Ramesh, 2004). Trazas de HAPs han sido halladas en muchos alimentos (vegetales, aceites vegetales, frutas, cereales, alimentos marinos, carne a la brasa, alimentos ahumados, café y té (Germuska & Michalski, 2000).

El uso de organismos como bioindicadores de contaminantes químicos tales como los HAPs radica en el hecho de que la contaminación presente en la columna de agua puede no hallarse bien registrada en el sedimento. El análisis de las concentraciones de HAPs en sedimento y agua puede dar información acerca de los niveles de contaminación, pero no de la fracción biodisponible, además los bivalvos pueden acumular y por lo tanto concentrar contaminantes a niveles muy por encima de los del agua en el que desarrollan su ciclo vital. Entre estos organismos el mejillón está considerado entre los mejores centinelas en el seguimiento de la contaminación marina, ya que son organismos sedentarios, filtradores y poseen una limitada capacidad de metabolización de HAPs (Bodin, 2004; Baumard, 1998).

En el 2005 se reportó por primera vez en nuestro país la presencia de *Perna viridis* en la Bahía de Cienfuegos, especie oriunda del Indo Pacífico, la cual en poco tiempo ha colonizado los sustratos duros naturales

y artificiales presentes en esta zona, lo que ha provocado serios inconvenientes a la economía del país. Una posible respuesta a ello pudiera ser la explotación comercial de este recurso, lo que disminuiría la presencia de estos organismos a niveles permisibles. La Bahía de Cienfuegos reporta valores de contaminación en sedimentos que la sitúan entre las dos más contaminadas en nuestro país (Martinez *et al.*, 2010), desde el 2002 la pesca estatal en este ecosistema está prohibida, es por ello que el objetivo de este trabajo fue evaluar la contaminación por HAPs del mejillón *Perna viridis* de la Bahía de Cienfuegos, teniendo en cuenta que en este muelle se encuentran las mayores concentraciones de estos organismos dentro de la bahía.

MATERIALES Y MÉTODOS

La muestra estuvo formada por 50 especímenes del Muelle Pablo Guzmán de la Bahía de Cienfuegos, con tallas entre 8 y 10 cm de largo antero-posterior de la concha, los cuales fueron congelados y mantenidos en congelación a -18 °C hasta su análisis, para lo cual fueron descongelados, luego se les extrajo la masa, se molió y homogenizó para obtener el pool que fue posteriormente analizado.

La metodología analítica empleada fue la descrita en EPA 8100 (1990), pesándose dos muestras de 10 g del pool, las cuales se trajeron en soxhlet con una mezcla de hexano/diclorometano durante 8 h, después de este tiempo se realizó la saponificación con una mezcla KOH/metanol y se extrajo con n-hexano, posteriormente la extracción obtenida se purificó en columnas con sílica y alúmina previamente tratadas y se eluyó con una mezcla de hexano/diclorometano 1-1.

La mezcla del estándar analítico utilizada fue suministrada por la firma ULTRA SCIENTIFIC, la cual contenía los siguientes hidrocarburos aromáticos: acenafteno, acenaftileno, antraceno, benzo(a)antraceno, benzo(a)pireno, benzo(b)fluoranteno, benzo(e)pireno, benzo(g,h,i)perileno, benzo(k)fluoranteno, bifenil, criseno, dibenzo(a,h)antraceno, dibenzotifeno, fluoranteno, fluoreno, indeno(1,2,3-cd)pireno, naftaleno, 1-metil naftaleno, 2-metil naftaleno, 2,6-dimetil naftaleno, 2,3,5-trimetil naftaleno, perileno, fenantreno y 1-metil fenantreno, pireno.

Para los análisis se utilizó un cromatógrafo de gases Shimadzu modelo 2014 con una columna capilar BP5 (5 % Phenyl y 95 % dimethyl polysiloxane) de 30 m x 0,25 mm de DI y 0,25 µm de espesor de película. La temperatura del inyector fue de 300 °C, la temperatura del detector 320 °C y un programa de temperatura para la columna con una temperatura inicial de 45 °C durante 5 min, seguido de rampas de temperaturas hasta 310 °C.

Los resultados de contenido de cada uno de los HAPs presentes en ambas muestras fueron promediados y reportados cada HAPs como los valores de contaminación presente en los mejillones en masa fresca.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1 se muestran las concentraciones promedios de las dos determinaciones de cada uno de los HAPs presentes en las muestras de mejillón evaluadas.

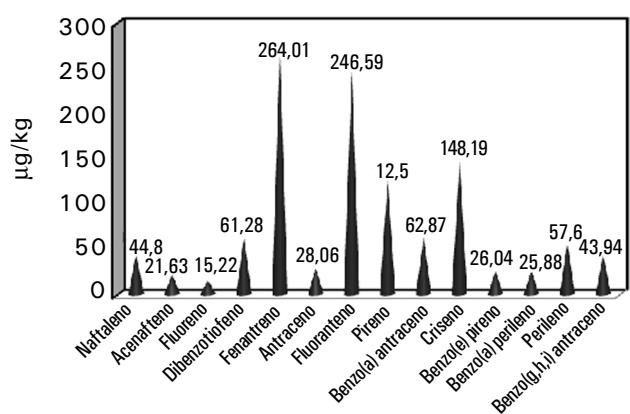


Fig. 1 Concentración promedio en $\mu\text{g}/\text{kg}$ de cada uno de los hidrocarburos aromáticos policíclicos encontrados en el pool de mejillones

En la figura 2, se representa el porcentaje de cada uno de los HAPs con respecto a la cantidad total de HAPs detectados. Las mayores contribuciones de hidrocarburos aromáticos estuvieron representadas por el fenantreno, fluoranteno, criseno y pireno con el 22,5;

21,0; 12,7; y 10,7 % respectivamente del total de los hidrocarburos encontrados.

Cada fuente de contaminación genera una distribución característica entre los diferentes HAPs, para determinar el posible origen se evaluaron las relaciones de HAPs más estudiadas que son; fenantreno/antraceno, fluoranteno/pireno y fluoranteno/fluoranteno + pireno (Aatmeeyata, 2010; Fernández *et al.*, 1999; Page, 1999; Soriano, 2006). Estos criterios se basan en peculiaridades en la composición y patrón de distribución de HAPs en función de la fuente de emisión. Cuando la relación fenantreno/antraceno es < 10 como en nuestro caso, la contaminación tiene un origen producto de procesos de combustión incompleta de combustibles fósiles, algo similar a lo ocurrido con el resto de las relaciones evaluadas, en que en todos los casos indicaron que las fuentes de contaminación encontradas fueron pirogénicas (TABLA 1).

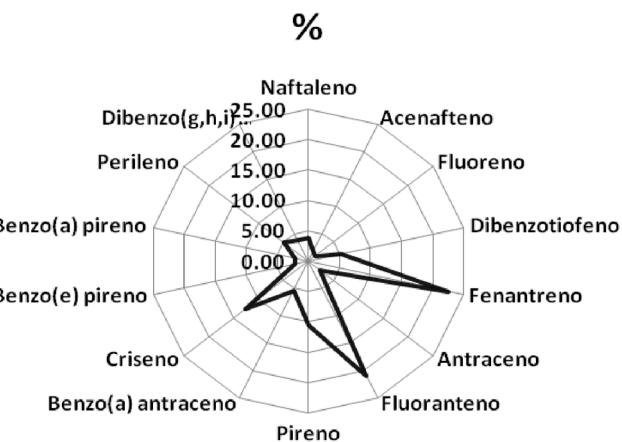


Fig. 2 Porcentaje promedio de los HAPs encontrados en el pool de mejillones

TABLA 1. Relaciones entre HAPs más estudiadas y valor de estas relaciones encontradas en el pool de mejillones analizados

Relación entre HAP	Petrogénico	Pirogénico	Valor encontrado
Fenantreno/antraceno	≥ 10	< 10	9,41
Fluoranteno/pireno	< 1	≥ 1	1,97
Fluoranteno/fluoranteno + pireno	$\leq 0,5$	$> 0,5$	0,66

En la figura 3 se muestran los porcentajes de los HAPs cancerígenos o posibles cancerígenos, resultó del 20,33 % (benzo(a)pireno, benzo(a)antraceno y el criseno) del total HAPs. De acuerdo con estudios realizados por la Agencia Internacional de Investigaciones del Cáncer de Lyon Reglamento (UE Nº 835/2011), el benzo(a)pireno ha sido considerado como agente carcinógeno humano

de categoría I, en tanto los dos restantes benzo(a)antraceno y criseno como posibles carcinógenos humanos con categoría II B.

La figura 4, muestra el contenido de benzo(a)pireno encontrado en el pool de mejillones, cuyo valor sobrepasó en más del doble el límite máximo de residuo permitido (Reglamento UE, Nº 835/2011).

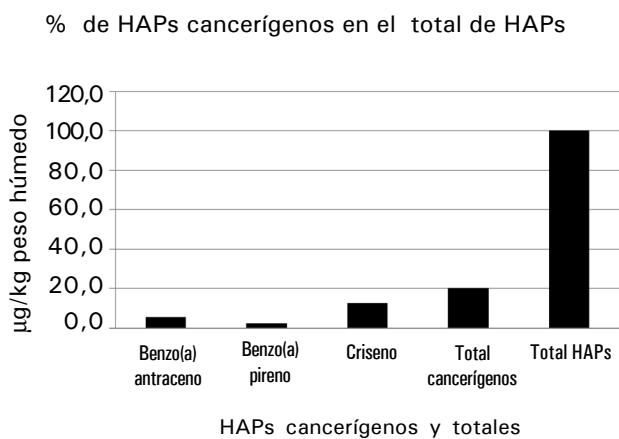


Fig. 3 Valores promedios de porcentajes de los HAPs cancerígenos en relación con el total de HAPs, encontrados en el pool de mejillones

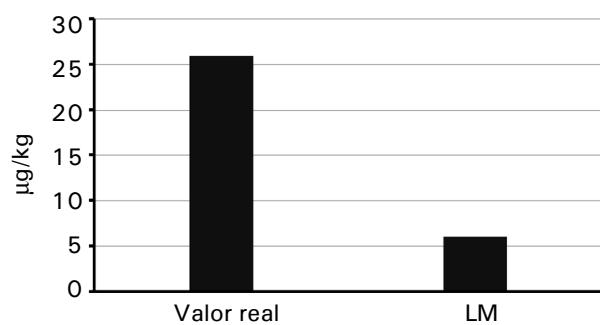


Fig. 4 Contenido real promedio encontrado en el pool de mejillones y límite máximo de residuo para el benzo(a)pireno

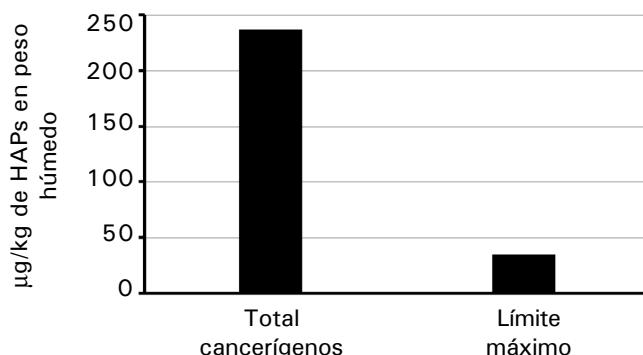


Fig. 5 Sumatoria de las concentraciones de benzo(a)pireno, benzo(a)antraceno, benzo(a)fluoranteno y criseno, y límite máximo permitido para estos HAPs cancerígenos o posibles cancerígenos

Los resultados discutidos anteriormente eximen al mejillón verde de la Bahía de Cienfuegos como un posible alimento con destino al consumo humano.

CONCLUSIONES

Los mejillones estudiados están contaminados con 14 HAPs, de los cuales dos están clasificados como posibles carcinógenos humanos y uno como agente carcinógeno humano, el benzo(a)pireno, cuyo contenido en el músculo de este organismo superó el límite máximo permitido de este contaminante, por lo que su consumo constituye un serio riesgo para la salud humana.

La principal fuente de contaminación de acuerdo con las relaciones de HAPs evaluados fue de carácter pirogénico, determinado por la gran urbanización e industrialización de las zonas adyacentes a la bahía.

REFERENCIAS

- Aatmeeyata, M. S. (2010). Aromatic hydrocarbons, elemental and organic carbon emissions from tire-wear. *Science of the total environmental.*, 408 (20), 4563-68.
- Antón, A. & Lizaso, J. (2001). Hidrocarburos aromáticos policíclicos. *Fundación Ibérica para la Seguridad Alimentaria*. Madrid.
- Baumard, P. (1998). Origin and bioavailability of PHAs in the Mediterranean Sea from mussels and sediment records. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, 47 (5), 415-439.
- Bodin., T., Burgeot, J. Y., Stanisière, G., Bocquené, D., Menard, C., Minier, I., et al. (2004). Seasonal variations of a battery of biomarkers and physiological indices for the mussel *Mytilus galloprovincialis* transplanted into the northwest Mediterranean Sea. *Comp. Biochem. Physiol.*, 138C, 411-427.
- Bories, G. (1990). Toxicidad de los hidrocarburos aromáticos policíclicos y de los productos de pirólisis. En J. Derache (Ed.), *Toxicología* (pp. 295-318). Omega, Barcelona.
- Bosveld, A. T. C., de Bie, P. A. F., van den Brink, N. W., Jongepier, H. F. & Klomp, A. V. (2002). In vitro EROD induction equivalency factors for the 10 PAHs generally monitored in risk assessment studies in the Netherlands. *Chemosphere*, 49, 75-83.
- Fernandez, P., Vilanova, R. M. & Grimalt, J. O. (1999). Sediment fluxes of polycyclic aromatic hydrocarbons in European high altitude mountain lakes. *Environ. Sci. Technol.*, 33 (21), 3716-3722.
- EPA 8100 (1990). Determination of polycyclic aromatic compounds for Chromatography.
- Germuska, R. & Michalski, P. (2000). Application of gel permeation chromatography and HPLC method with fluorescence detector to determination of benzo(a)pyrene in food samples. *Cent Eur Public Health & Suppl.*, 92-93.

- Guillen, M. D. & Sopelana, P. (2004). Load of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible vegetable Oils: importance of alkylated derivatives. *J. Food Protect.*, 67 (9), 1904-1913.
- Iniesta, R. & Blanco, J. (2005). Bioacumulación de hidrocarburos y metales asociados a vertidos accidentales en especies de interés comercial de Galicia. *Recursos Marinos* (Monog.), 2, 200 pp.
- Lijinsky, W. (1991). The formation and occurrence of polynuclear aromatic hydrocarbons associated with food. *Mut. Res.*, 259 (3-4), 251-261.
- Page, D. S., Boehm, P. D., Douglas, G. S., Bence, A. E., Burns, W. A. & Mankiewicz, P. G. (1999). Pyrogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments record past human activity: A case study in Prince William Sound, Alaska. *Mar Pollut Bull.*, 38, 247-260.
- Marce, R. M. & Borrull, F. (2000). Solid-phase extraction of polycyclic aromatic compounds. *J. Chromatogr.*, 885, 273-290.
- Martínez, R. R., Torres, R. I., Suárez, M. Y. & Beltrán G. J. (2011) (en prensa). Nivel de contaminación por hidrocarburos del petróleo en zonas costeras de Cuba. Centro de Ingeniería y Manejo Ambiental de Bahías y Costas (CIMAB).
- Ramesh, A., Walker, S. A., Hood, D. B., Guille, M. D., Schneider, K. F. & Weyand E. H. (2004). Bioavailability and risk assessment of orally ingested polycyclic aromatic hydrocarbons. *Int. J. Toxicol.*, 23 (5), 301-33.
- Reglamento (UE) Nº 835/2011. Comisión del 19 de agosto 2011. Que modifica el Reglamento (CE) Nº 1881/2006 por lo que respecta al contenido máximo de hidrocarburos aromáticos policíclicos en productos alimenticios.
- Soriano, S. J. (2006). Datos preliminares de HAPs en mejillón silvestre de la costa Cantábrica (España) después del vertido del prestige. *Ciencias Marinas*, 32 (2B), 457-463.