



Universidad Nacional del Sur

TESIS DE DOCTOR EN BIOLOGÍA

ANA LAURA OLIVA

“Acumulación de Hidrocarburos Aromáticos
Policíclicos (PAHs) en sedimentos y
mejillines (*Brachidontes rodriguezii*)
del Estuario de Bahía Blanca ”

BAHÍA BLANCA

ARGENTINA

2015

PREFACIO

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctor en Biología de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el ámbito del Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia de la Universidad Nacional del Sur y del Laboratorio de Química Marina del Instituto Argentino de Oceanografía (IADO), dependiente del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), durante el período comprendido entre el 13 de septiembre de 2011 y el 02 de Julio de 2015, bajo la dirección de los Dres. Jorge E. Marcovecchio (IADO-CONICET) y Andrés H. Arias (UNS-IADO-CONICET).

Bioq. Ana Laura Oliva

02 de Julio de 2015
Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia
Universidad Nacional del Sur



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
Secretaría General de Posgrado y Educación Continua

La presente tesis ha sido aprobada el/...../....., mereciendo la calificación de (.....)

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecer a mis directores Jorge Marcovecchio y Andrés Arias por haberme acompañado, aconsejado y guiado durante el desarrollo de esta tesis. A *Jorge* por abrirme las puertas del laboratorio y aceptarme en su grupo de trabajo. Agradezco profundamente su permanente buena predisposición y por haber estado siempre presente ante cada inquietud. A *Andrés* por su paciencia infinita, por su presencia constante durante todo el desarrollo de esta tesis, por darme ánimo, empuje y confianza sobre todo en aquellos momentos en que yo veía todo gris.

Al *Instituto Argentino de Oceanografía* (IADO) por brindarme lugar de trabajo, al *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas* (CONICET) por otorgarme la beca para la realización de mi Doctorado y al Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia por aceptarme como alumna de postgrado.

A todo el *Laboratorio de Química Marina*, porque todos de alguna manera me han ayudado durante el desarrollo de esta tesis, especialmente: a *Sandra y Vane* por sus sabios consejos y palabras de aliento y a *Fabián*, por haber estado siempre dispuesto (¡y con mates!) a ayudarme cada vez que lo necesité.

A *Natalia Buzzi*, por su ayuda en la puesta a punto de la técnica para la determinación de lípidos y por haber compartido conmigo largas horas abriendo mejillines.

A *Enio, Beto y Juan*, personal de la IADO IV, por su permanente ayuda en todas las campañas de muestreo.

A todos los *integrantes del IADO*, quienes siempre estuvieron dispuestos a ayudarme.

Al departamento de Química por permitirme el uso del cromatógrafo, especialmente a los personales técnicos del LIUC: *Marcelo Pereyra y Magalí Belelli* quienes siempre me recibieron cálidamente y me brindaron su ayuda cada vez que

la necesité.

A los personales de apoyo del PLAPIQUI *Clarisa Cicchelli* y *Federico Delucchi* por facilitarme el uso del liofilizador y por su buena predisposición, ayuda y calidez al recibirme.

A mi amiga, "socia" y compañera *Noe*, con quien compartí todo el transcurso de esta tesis y ha sido un apoyo fundamental en todo este camino. Gracias por las infinitas charlas, levantadas de ánimo, complicidad, ayuda desinteresada y mates compartidos.

A mi compañera de laboratorio *Pame* junto a la que compartí gratos momentos como las campañas de muestreo (con sus embarradas, caídas y risas) y horas de laboratorio musicalizadas con el sonido de la campana.

A todos mis *compañeros "de la biblio"* a los actuales y a los que alguna vez estuvieron, con quienes comparto el día a día en el trabajo y junto a los cuales es siempre gratificante intercambiar ideas o recibir consejos y así enriquecernos a nivel personal y profesional.

A mis amigas bioquímicas: *Vane, Noe, Maga, Bel y Romi* por sus palabras de aliento, por escucharme y porque siempre (a pesar de las distancias físicas) están presentes.

A *Ana, Mari, Nati y Guille*, por su amistad incondicional de tantos años. Por su constante apoyo, ánimo y empuje. Muchas gracias por escucharme tantas veces y ser así mi cable a tierra.

A toda mi *familia*, que siempre está a mi lado brindándome su apoyo y alegrándose con cada uno de mis logros.

A *Ampi*, que con sus sonrisas y "su aleteo" alegra mis días, logra abstraerme un rato del mundo y me hace muy feliz.

A mi *hermana* por estar siempre presente en cada momento de mi vida y por alentarme en cada paso que doy.

A mis *papás*, pilares de mi vida y gracias a los cuales soy lo que soy. Por su apoyo, aliento y amor incondicional e incluso por aguantar tantas veces mi regreso a casa cansada o de malhumor. Por demostrarme con ejemplos que la perseverancia y el esfuerzo son el camino para lograr los objetivos.

Y finalmente a *Damián*, con quien comparto mi vida hace tantos años. No solo por haberme acompañado emocionalmente, escuchándome, alentándome y aconsejándome en cada paso, sino también por haber soportado mis constantes consultas informáticas que me han ayudado y mucho durante todo el desarrollo de esta tesis.

RESUMEN:

Los ambientes costeros mundiales están experimentando un incremento de presión antrópica, que incluye el vertido de desechos industriales y urbanos (muchos de ellos sin ningún tratamiento previo), el aumento de concentraciones de sustancias perjudiciales, los dragados periódicos en los puertos, la ocupación de terrenos intermareales y submareales, entre otros. Entre los compuestos potencialmente contaminantes se encuentran los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (PAHs, del inglés, *Polycyclic aromatic hydrocarbons*). Se conocen más de 1000 PAHs, pero a nivel ambiental, sólo un pequeño grupo de estos compuestos adquiere importancia. Los PAHs son tóxicos, persistentes, bioacumulables y tienen la capacidad de ser transportados a través del aire y depositados a largas distancias, causando efectos negativos sobre la salud y el medio ambiente tanto cerca como lejos de su fuente emisora; por esto, comúnmente son incluidos dentro de la categoría de compuestos orgánicos persistentes (COPs). A pesar de que pueden tener origen natural, se considera que la principal fuente de liberación de los PAHs en el medio ambiente son las actividades antropogénicas. Frente a este problema, el objetivo general del presente trabajo de tesis doctoral es estudiar, monitorear e integrar el conocimiento del estado de impacto, flujo y transferencia de PAHs a los compartimentos bióticos. Para ello se obtuvieron muestras de sedimentos superficiales y moluscos bivalvos autóctonos (mejillín, *Brachidontes rodriguezii*) en diversos sitios de muestreo del Estuario de Bahía Blanca, en las cuales se analizó la presencia de 17 PAHs de interés toxicológico-ambiental.

Los resultados obtenidos mostraron que los PAHs se acumulan tanto en sedimentos como en bivalvos para el área de estudio. Las concentraciones halladas permitieron clasificar la zona con niveles moderados de contaminación en relación a otros sitios costeros similares alrededor del mundo. Los máximos valores de PAHs para ambas matrices fueron registrados en inmediaciones del área portuaria-

industrial, mostrando una tendencia general decreciente a medida que aumentó la distancia a los sitios industriales o más densamente poblados. Por último, se identificaron orígenes mixtos de PAHs para ambas matrices, destacándose los procesos pirolíticos por sobre los petrógenicos.

ABSTRACT

Global coastal environments are supporting an increased human pressure, including industrial and urban discharges (many of them without adequate treatment), increased concentrations of hazardous substances, periodic dredging in ports, and occupation of intertidal and subtidal lands, among others. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) are a large group of compounds (more than 1000), but only a small group of these compounds are of environmental importance. PAHs are a unique class of persistent organic pollutants (POPs) due to their persistence, toxicity, ability to bioaccumulate, long-range transport properties, and adverse effects on environmental and human health. Anthropogenic activities are generally considered the major source of PAHs release into the environment, even though they may have natural origins. In view of this, the main objective of this Ph. D. Thesis is to study, monitor and integrate knowledge of the state of impact, flow and transfer of PAHs to biotic compartments. Following the mentioned objective, surface sediment samples and native bivalves (Mussel, *Brachidontes rodriguezii*) were collected from the Bahía Blanca Estuary and the presences of 17 PAHs were analyzed.

The results showed that PAHs accumulates in both sediments and bivalves within the study area. The concentrations found allowed to classify the area as with moderate levels of contamination in relation to other similar coastal sites around the world. The maximum levels of PAHs were found in the vicinity of the port-industrial area and concentrations of PAHs appeared to decrease as the distance from the urban/industrial core increased. Finally, in both sediment and mussel, mixed PAHs sources were identified, with a slight imposition of pyrolytic over the petrogenic inputs.

ÍNDICE GENERAL

PREFACIO.....	I
AGRADECIMIENTOS.....	III
RESUMEN.....	VI
ABSTRACT.....	VIII
CAPITULO I: INTRODUCCIÓN	1
1 INTRODUCCIÓN GENERAL	1
2 HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS.....	3
2.1 Características generales	3
2.2 Origen.....	6
2.3 Fuentes de PAHs.....	7
2.4 Ingreso de los PAHs a los ambientes costeros.....	9
2.5 Bioacumulación en organismos marinos	11
2.6 Uso de mejillones como especies centinelas	12
2.7 Toxicidad de los PAHs y efectos sobre los seres humanos.....	14
3 ANTECEDES EN EL TEMA.....	17
4 HIPÓTESIS DE TRABAJO	18
5 OBJETIVOS.....	18
5.1 Objetivo general	18
5.2 Objetivos específicos	19
CAPITULO II: AREA DE ESTUDIO Y METODOLOGÍA.....	20
1 ÁREA DE ESTUDIO	20
1.1 Especie propuesta como organismo centinela	23
2 DISEÑO Y SITIOS DE MUESTREO.....	24
3 METODOLOGÍA.....	31

3.1	Sedimentos	31
3.1.1	Determinación de Humedad:	31
3.1.2	Determinación de Carbono Orgánico	31
3.1.3	Granulometría de los sedimentos	31
3.1.4	Extracción y Preconcentración de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en sedimentos	32
3.1.5	Limpieza de extractos	32
3.1.6	Determinación de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos Cromatografía Gaseosa-Espectrometría de Masas	33
3.1.7	Evaluación del % de recuperación:	36
3.1.8	Controles de calidad	37
3.2	Mejillines	39
3.2.1	Caracterización biológica de los organismos	39
3.2.2	Determinación de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en mejillines	40
CAPITULO III: HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN SEDIMENTOS SUPERFICIALES		43
1	NIVELES DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN SEDIMENTOS SUPERFICIALES.....	43
2	RELACIÓN ENTRE LOS PAHS Y LAS VARIABLES FISICOQUÍMICAS DEL SEDIMENTO.....	46
	2.1 Relación entre los PAHs y el Carbono Orgánico	46
	2.2 Relación entre los PAHs y la granulometría	49
3	COMPOSICIÓN Y ORIGEN DE LOS PAHS.....	51
	3.1 Análisis de la distribución según el número de anillos	51
	3.2 Análisis de correlación entre congéneres	54
	3.3 Análisis de índices moleculares	56
	3.4 Análisis de componentes principales (ACP)	60
4	COMPARACIÓN DE LOS NIVELES DE PAHS CON OTROS SITIOS COSTEROS	65
5	ANÁLISIS DE LA CALIDAD DE LOS SEDIMENTOS MEDIANTE LA COMPARACIÓN CON NIVELES GUÍAS	67

6	ANÁLISIS DEL POTENCIAL CARCINOGENICO DE LOS PAHS	70
CAPITULO IV: HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN MEJILLINES		74
1	CARACTERIZACIÓN BIOLÓGICA.....	74
1.1	Índice de condición	74
1.2	Lípidos totales.....	76
1.3	Contenido de humedad.....	78
2	NIVELES DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN <i>Brachidontes rodriguezii</i>	79
3	COMPOSICIÓN Y ORIGEN DE LOS PAHS.....	84
3.1	Comparación entre los niveles de PAHs en sedimentos y mejillines.....	88
3.2	Bioacumulación de los PAHs en <i>Brachidontes rodriguezii</i>	92
4	COMPARACIÓN DE LOS NIVELES DE PAHS CON OTROS SITIOS COSTEROS	94
CAPITULO V: CONCLUSIONES FINALES		96
BIBLIOGRAFÍA.....		100
PUBLICACIONES CIENTÍFICAS.....		124

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

1 INTRODUCCIÓN GENERAL

Las zonas costeras son una región de interrelación entre el continente, la atmósfera y el mar. La riqueza y diversidad de recursos presentes en estas zonas favorece el asentamiento humano a lo largo de los litorales y estuarios en todo el mundo. Se estima que más del 65% de la población humana vive en las costas con una tendencia general de la gente a moverse desde regiones continentales hacia las costas (Costanza, 1994).

Los ambientes costeros mundiales están experimentando un incremento en la presión antrópica que reciben, incluyendo el vertido de desechos industriales y urbanos (muchos de ellos sin ningún tratamiento previo), el aumento del transporte marítimo, los dragados periódicos en los puertos, la ocupación de terrenos intermareales y submareales, entre otros. Estas presiones están generando importantes impactos en los ecosistemas marinos, como el aumento de concentraciones de sustancias perjudiciales, pérdida de hábitats, sobreexplotación de recursos, o introducción de especies alóctonas (Muniz et al., 2013). Es así que uno de los mayores retos que enfrenta la sociedad actual es cómo administrar correctamente el uso de esta importante y vital área, de tal manera que las futuras generaciones puedan también disfrutar de sus recursos (Marcovecchio et al., 2014a).

La **contaminación marina** puede definirse como “la introducción de cualquier sustancia o energía al ambiente marino que puede generar efectos nocivos sobre los individuos, poblaciones, comunidades y/o ecosistemas” (PNUMA, 2007; GESAMP, 2011). Es importante tener en cuenta que no existe una relación sencilla y directa entre las concentraciones de los contaminantes y su riesgo ecológico, ya

que la sola presencia de los contaminantes no necesariamente implica que estén biodisponibles, y por lo tanto ser capaces de ser incorporados por los organismos y eventualmente causarles efectos tóxicos (Bellás *et al.*, 2011).

La implementación de programas de monitoreo es una herramienta clásica para identificar, evaluar, seguir y regular las concentraciones de compuestos potencialmente tóxicos en el ambiente marino. La monitorización consiste en la observación repetitiva en el espacio y tiempo de compuestos químicos o elementos biológicos utilizando métodos de medición estandarizados (WHO 1974).

Los principales grupos de compuestos potencialmente contaminantes son entre otros, los metales pesados, los compuestos orgánicos de estaño (MBT, DBT y TBT), los plaguicidas (organoclorados, organofosforados, etc.), bifenilos policlorados (PCBs), dioxinas y los hidrocarburos, entre los que se destacan los **Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (PAHs)** del inglés, *Polycyclic aromatic hydrocarbons*), sobre los cuales se basará el presente trabajo de esta tesis.

2 HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS

2.1 Características generales

Los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (PAHs) son un grupo de compuestos orgánicos formados por la fusión de dos o más anillos aromáticos o, en algunos casos, de un anillo pentagonal. La mayoría de ellos están formados por anillos bencénicos, aunque muchas familias de PAHs presentan grupos funcionales que pueden incluir elementos diversos.

Estos compuestos son sólidos a temperatura ambiente, incoloros o de color blanco o amarillo-verdoso pálido. Se caracterizan por presentar bajas presiones de vapor y baja solubilidad en agua, así como altos puntos de fusión y ebullición. A medida que se incrementa su peso molecular y el tamaño de la molécula, decrece su solubilidad en agua y aumenta su hidrofobicidad, toxicidad y persistencia en el medio ambiente. Presentan altos coeficientes de octanol / agua (K_{OW}), siendo esta característica sumamente importante, ya que su baja solubilidad en agua y su alta afinidad por los compuestos orgánicos van a ser determinantes en el comportamiento y distribución de los PAHs en el medio ambiente, facilitando su bioacumulación y concentración. La tabla 1.1 resume las características fisicoquímicas de los 17 PAHs que se analizaron en esta tesis.

Los PAHs pertenecen al grupo de los Contaminantes Orgánicos Persistentes (COPs), ya que de acuerdo al Protocolo sobre COPs firmado en Dinamarca en 1998, reúnen las cuatro características fundamentales allí definidas: son tóxicos, persistentes, bioacumulables y tienen la capacidad de ser transportados a través del aire y depositados a largas distancias, causando efectos negativos sobre la salud y el medio ambiente tanto cerca como lejos de su fuente emisora.

En la naturaleza se encuentran como mezclas complejas. Se conocen más de 1000 PAHs, pero a nivel ambiental, sólo un pequeño grupo de estos compuestos adquiere importancia.

En base a sus propiedades químicas, su abundancia y su toxicidad, la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (US EPA), la Organización Mundial de la Salud (WHO), la Agencia Estadounidense para las Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (US ATSDR) y la Unión Europea (EU) han considerado a ciertos PAHs como contaminantes prioritarios y han recomendado su inclusión en programas de monitoreo.

Tabla 1.1. Características fisicoquímicas y abreviaturas empleadas de los 17 PAHs analizados en esta tesis.

Nombre y abreviatura	Peso Molecular	Fórmula química	Punto de Fusión(Cº)	Punto de Ebullición(Cº)	Solubilidad (mg/L)	Log K _{ow}
Naftaleno (NA)	128		80	218	31	3.37
2-metil-Naftaleno (2M-NA)	142		35	241	30	3.86
Acenaftileno (ACY)	152		92	270	16.1	4
Acenafteno (ACE)	154		96	279	3.8	3.92
Fluoreno (FL)	166		116	295	1.9	4.18
Fenantreno (PHE)	178		101	339	1.1	4.57
Antraceno (AN)	178		216	340	0.045	4.54
Fluoranteno (FLU)	202		111	375	0.26	5.22
Pireno (PY)	202		156	360	0.132	5.18
Benzo(a)antraceno (BaA)	228		160	435	0.011	5.91
Criseno (CHR)	228		255	448	0.002	5.86
Benzo(b)Fluoranteno (BbF)	252		168	481	0.0015	5.8
Benzo(k)Fluoranteno (BkF)	252		217	481	0.0008	6
Benzo (a)Pireno (BaP)	252		179	495	0.0038	6.04
Indeno(1,2,3,c-d)pireno (IP)	276		164	536	Insoluble	6.58
Dibenzo(a,h)antraceno (DBA)	278		267	524	0.006	6.75
Benzo-ghi-Perileno (BPE)	276		277	500	0.00026	6.5

2.2 Origen

El origen o síntesis de los PAHs puede ser:

PETROGENICO: Debido a procesos geológicos como son la formación de petróleo y el carbón. Los PAHs se encuentran de manera natural en los combustibles fósiles como el petróleo crudo y el carbón, como resultado de una transformación lenta de la materia orgánica a bajas temperaturas y altas presiones (**PAHs petrogénicos**). Las concentraciones suelen ser bajas (alrededor del 1%) dependiendo en gran medida del origen del crudo. Durante este proceso se favorece la formación de alquil-derivados, de forma que los PAHs no sustituidos tienen una concentración relativa más baja (Soriano Sanz, 2009).

PIROLITICO: Los PAHs se forman en cualquier proceso de combustión incompleta de la materia orgánica a elevadas temperaturas. La combustión puede ser originada debido a causas naturales como incendios forestales o erupciones volcánicas, aunque su contribución porcentual es mínima cuando se la compara con aquella generada por las actividades industriales y/o antropogénicas (**PAHs pirolíticos**).

NATURAL: Los PAHs pueden formarse de manera natural debido a la transformación de compuestos orgánicos en suelos o sedimentos bajo condiciones de anoxia o hipoxia (**PAHs diagénicos**), o pueden producirse por biosíntesis directa a partir de organismos como bacterias, hongos y algunos insectos (**PAHs biogénicos**) (Hites et al., 1980; Burgess et al., 2003; Kovács et al., 2008; Pietzsch et al., 2010; Nakata et al., 2014). Algunos PAHs que pueden ser mencionados como ejemplos son el Fenantreno, el cual puede ser sintetizado por precursores como alquil-fenantrenos presentes en los tejidos de las plantas (Sims & Overcash, 1983; Kovács et al., 2008), y el Perileno, que puede ser producido en sedimentos marinos bajo condiciones anóxicas (Venkatesan, 1988; Wilcke et al., 2003).

2.3 Fuentes de PAHs

Como se mencionó en el párrafo anterior, los PAHs pueden ser originados de manera natural; sin embargo su contribución es mínima comparada con la de las actividades antropogénicas que suelen ser las principales responsables de la presencia de los PAHs en ambientes marinos (Figura 1.1). La amplia variedad de fuentes existentes de estos compuestos explica su gran distribución en suelos, aguas y aire. Las principales fuentes antropogénicas son:

Emisiones industriales:

Las fuentes más importantes que pueden citarse son las centrales térmicas generadoras de calor y electricidad, que utilizan como combustible carbón o combustibles fósiles; plantas productoras primarias de aluminio, acero y hierro (debido al empleo de electrodos de carbono hechos a base de alquitranes y al uso del coque como fuente de energía); industrias petroquímicas; plantas incineradoras (por ej., aquellas que incineran poliestireno, polietileno, policloruro de vinilo, etc.); fabricas productoras de cemento, betún, neumáticos de caucho y asfalto.

Emisiones debido al tráfico:

Autos, colectivos, trenes, barcos y demás vehículos a motor, que usan combustibles fósiles como naftas y gasoil, son una fuente importante de emisión de PAHs. Muchos factores influyen en la generación de los PAHs en los motores, como por ejemplo el tipo de combustible empleado, la proporción de la mezcla combustible/aire, el tipo de motor, etc.

Emisiones domésticas:

Debidas principalmente al uso de combustibles orgánicos como leña, carbón o derivados del petróleo para la calefacción y/o cocción de alimentos. También son de importancia los PAHs que se generan en procesos como la quema de residuos,

el asado o ahumado de los alimentos y el humo del tabaco, primera causa mundial de inducción de cáncer.

Emisiones agrícolas:

La quema controlada de grandes extensiones de campo con el fin de limpiar el suelo y prepararlo para una nueva siembra es una fuente importante de PAHs en zonas con una importante actividad agrícola-ganadera.

Derrames de petróleo:

Los derrames accidentales que se producen durante el transporte de petróleo crudo y sus derivados por vía marítima pueden introducir grandes cantidades de PAHs al ambiente marino.

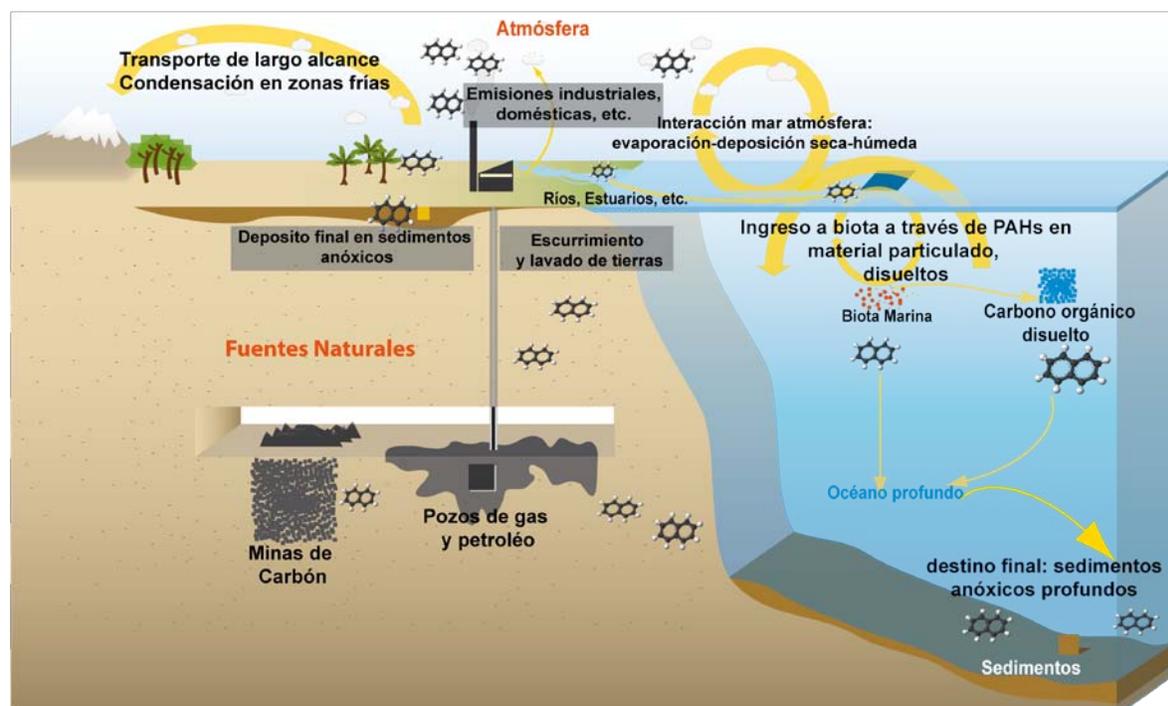


Figura 1.1. Fuentes y dinámica de PAHs en los ecosistemas.

2.4 Ingreso de los PAHs a los ambientes costeros

Una vez producidos los PAHs pueden ingresar al ambiente marino por diferentes vías, entre las que pueden citarse: el lavado de tierras urbanas, deposición atmosférica, descargas directas de efluentes domésticos e industriales, precipitaciones.

Los PAHs que ingresan al ambiente por vía atmosférica son rápidamente adsorbidos sobre el material particulado. Su destino final estará determinado por numerosos procesos de partición y transporte subsiguientes. Su estructura química les confiere una gran estabilidad química y resistencia a ser atacados por sustancias químicas, aunque sí son degradados tanto fotoquímica como biológicamente. Como se expresó previamente, la solubilidad y la afinidad de estos compuestos sobre las fases orgánicas aumentan con el aumento del número de anillos. Los PAHs unidos a las partículas presentan una mayor resistencia a la degradación. En conjunto la baja tasa de degradación, la menor volatilidad y la fuerte adsorción a partículas, hacen que los PAHs que poseen un elevado peso molecular tiendan a acumularse en los sedimentos y en algunos organismos acuáticos.

Agua

Si bien existen varios trabajos en la literatura en donde se determinan los PAHs en agua (Maldonado et al., 1999; Zhou et al., 2000; Cincinelli et al., 2001; Zhou & Maskaoui, 2003; Countway et al., 2003; Guitart et al., 2007; Arias et al., 2009; Bourgeault et al., 2013; Botello et al., 2015), la determinación de éstos contaminantes en agua no es lo más habitual en estudios de contaminación por compuestos orgánicos, ya que las concentraciones suelen ser muy bajas y además no reflejan una distribución espacial real. Sin embargo luego de vertidos accidentales la determinación en esta matriz suele ser muy importante, ya que la composición y concentración de la fracción soluble puede determinar el primer impacto del producto vertido sobre los organismos marinos (Soriano Sanz, 2009).

La distribución de los PAHs entre las fracciones disuelta y particulada depende tanto de la solubilidad intrínseca de cada PAH individual como de la disponibilidad de sustratos de unión, tales como partículas suspendidas, contenido de materia orgánica, etc.

Se puede decir que -en general- existe un gradiente global de concentraciones, por el cual las concentraciones alejadas de la costa son menores, aumentan cerca de la costa y son máximas en la microcapa superficial, en donde varios estudios han demostrado un enriquecimiento en PAHs con respecto al resto de la columna de agua (Cincinelli et al., 2001; Latimer & Zheng, 2003; Guitart et al., 2007).

Sedimentos

Los sedimentos pueden definirse como el depósito de origen detrítico, químico u orgánico fruto de la destrucción mecánica o de la alteración de las rocas, de las precipitaciones de elementos disueltos en el agua o de la acumulación de materia orgánica en un medio continental o marino, y representan el mayor reservorio de PAHs en ambientes costeros (Soclo et al., 2000; Culotta et al., 2006; Quiao et al., 2006; Boonyatumanond et al., 2006; Chen et al., 2011; Acquavita et al., 2014). Ciertas características de esta matriz -como por ejemplo el contenido de materia orgánica y la granulometría- determinan su capacidad de retención de contaminantes. Por otro lado, algunos procesos naturales (como la bioturbación, resuspensión y remoción), así como los procesos de dragado favorecen la movilización de contaminantes antiguos retenidos en los sedimentos.

Muchos estudios se han realizado a nivel global sobre los sedimentos superficiales, ya que estos representan los aportes más recientes al medio. En general los máximos valores se encuentran en puertos, golfos, bahías y estuarios, que suelen estar localizados en sitios cercanos a centros urbanos e industriales, observándose una tendencia a decrecer paulatinamente a medida que aumenta la distancia a estos centros (Baumard et al., 1998a; Kim et al., 1999; Soclo et al., 2000; Lipiatou & Saliot, 1991; Arias et al., 2010a).

De acuerdo a las observaciones documentadas (Baumard et al., 1999a, 1999b; Soclo et al., 2000; Magi et al., 2002; Latimer & Zheng, 2003; Yim et al., 2005; Quiao et al., 2006; Sprovieri et al., 2007; Chen et al., 2013) la composición de los PAHs en los sedimentos está dominada por compuestos de alto peso molecular (de 4 a 6 anillos bencénicos), en contraste con las distribuciones generales en agua de mar y fase gaseosa, que tienden a estar dominadas por PAHs de bajo peso molecular (2 y 3 anillos).

2.5 Bioacumulación en organismos marinos

La bioacumulación puede definirse como aquel proceso por el cual una sustancia alcanza en un organismo una concentración más alta que la que tiene en el ambiente al que está expuesto (<http://www.epa.gov/espanol/glosario/>).

Los PAHs más biodisponibles para los organismos marinos son aquellos que se encuentran disueltos en agua, mientras que los asociados a la materia orgánica (disuelta o particulada) presente en la columna de agua y sedimentos están generalmente menos biodisponibles (Porte & Albaiges, 1993; Baumard et al., 1998a, 1998b, 1999a; Thorsen et al., 2004; Soriano Sanz, 2009).

La principal vía de incorporación de PAHs en los organismos marinos se produce a través de la cadena alimentaria, a partir de sedimentos contaminados o aquellos disueltos en el agua. La característica lipofílica de estos compuestos facilita el ingreso a través de las membranas lipídicas y su eventual bioacumulación en organismos acuáticos. Luego, las características fisiológicas del organismo como el contenido de lípidos, el estado reproductivo, las tasas de ingreso y depuración, y su capacidad metabólica serán determinantes en cuanto al grado de acumulación y retención de los PAHs. La capacidad de metabolización dependerá de la especie afectada. Algunos organismos marinos como los peces son capaces de metabolizar determinados PAHs, y es por ello que generalmente no acumulan concentraciones elevadas de PAHs, ya que presentan sistemas enzimáticos que les permiten

metabolizarlos y excretarlos por la bilis. Por ejemplo, el sistema oxidasa de función mixta (MFO) dependiente del citocromo P450, se ha localizado tanto en vertebrados como en invertebrados, y bajo la inducción por la exposición a los PAHs y/u otros contaminantes orgánicos polares se observa un aumento de su actividad en el hígado y otros tejidos. En el proceso de metabolización ciertos PAHs pueden ser transformados en intermediarios que resultan ser altamente tóxicos, mutagénicos o carcinógenos para el organismo involucrado. De hecho ciertos metabolitos de PAHs hallados en peces bentónicos están fuertemente asociados con lesiones y neoplasmas a nivel hepático (Varanasi et al., 1989; Malik et al., 2008; Johnson-Restrepo et al., 2008; Zhao et al., 2014.).

Otras especies marinas -como algas, moluscos e invertebrados primitivos- presentan menor capacidad metabólica y por lo tanto acumulan mayores concentraciones de estos compuestos. Esta incapacidad metabólica “les confiere cierta ventaja”, pues los protege de sus metabolitos carcinogénicos, ya que los PAHs precisan de activación metabólica para poder ejercer sus acciones tóxicas.

2.6 Uso de mejillones como especies centinelas

La monitorización biológica es una técnica ampliamente utilizada, que emplea la capacidad que tienen algunos organismos denominados “centinelas” o “bioindicadores” de acumular y bioconcentrar y eventualmente de biomagnificar los contaminantes presentes en el medio. Las especies bioindicadoras deben ser, en general, abundantes, muy sensibles al medio de vida, fáciles y rápidas de identificar, bien estudiadas en su ecología y ciclo biológico, y con poca movilidad (Villanueva & Botello, 2014). El uso de bioindicadores puede realizarse de forma activa o pasiva. En el primer caso los organismos son obtenidos de su ambiente natural, evaluando así la calidad ambiental del sitio donde fueron obtenidos. Por el contrario en el segundo caso los individuos provenientes de lugares no contaminados o cultivados en ambientes artificiales no contaminados son

trasplantados a un determinado sitio, permitiendo así realizar un seguimiento de las consecuencias químicas y biológicas del trasplante a lo largo del tiempo y del espacio.

A nivel mundial los moluscos bivalvos han sido ampliamente utilizados como especies centinelas para la vigilancia en las zonas costeras, y en especial algunas especies de mejillones como *Mytilus edulis*, *Mytilus galloprovincialis*, *Perna perna*, así como algunas especies de ostras (*Crassostrea* sp., *Ostrea* sp., entre otras) (Goldberg, 1975; Sericano et al., 1995; Baumard et al., 1998a; Chase et al., 2001; Botello et al., 2002; Francioni et al., 2007; Massara Paletto et al., 2008; Ramdine et al., 2012).

El empleo de mejillones como organismos centinelas fue propuesto por Goldberg (1975) como una estrategia alternativa para entender la calidad de las aguas marinas a través del proyecto de "Vigilancia a través del Mejillón" (*Mussel Watch Program*), cuyo objetivo era monitorear de manera trimestral las costas de los Estados Unidos. A raíz del éxito y la confiabilidad que demostró tener esta herramienta de monitoreo, su uso se dispersó por todo el mundo (por ejemplo, las costas de México, Caribe, Centroamérica y Sudamérica; Sericano et al., 1995) y Asia (Tanabe et al., 2000), con técnicas de muestreo y análisis estandarizados. A modo de ejemplo también puede citarse el "Mussel Watch Program", que, establecido en 1986, es el programa de monitoreo continuo más extenso y el cual se mantiene vigente en la actualidad. Dicho programa, establecido por la NOAA (*National Oceanic and Atmospheric Administration*, USA), fue desarrollado para analizar las tendencias de contaminantes químicos y biológicos en los sedimentos y tejidos de bivalvos recogidos en más de 300 sitios costeros de los Estados Unidos, incluyendo Alaska, Hawái, los Grandes Lagos y Puerto Rico (fuente: <http://ccma.nos.noaa.gov/about/coast/nsandt/musselwatch.aspx>).

De acuerdo a lo informado por numerosos investigadores que han trabajado en el tema (por ej., Goldberg et al., 1978; Phillips, 1980; Farrington et al., 1983; Marcovecchio et al., 2014b) las características más importantes que permiten el

uso de los mejillones como organismos centinela son:

- Tienen una amplia distribución geográfica (cosmopolitas).
- Son sedentarios y fáciles de recoger.
- Son organismos filtradores intermareales y presentan hábitos de alimentación simples.
- Son capaces de acumular y tolerar altas concentraciones de muchos contaminantes orgánicos e inorgánicos en sus tejidos (Livingstone, 1991), sobreviviendo en condiciones de contaminación severa que a menudo podrían reducir significativamente o eliminar a otras especies.
- Poseen una baja velocidad de degradación enzimática lo cual los hace capaces de mantener niveles relativamente más altos de moléculas orgánicas en comparación con otros organismos (Meador et al., 1995).
- Pueden ser trasplantados a otros sitios y mantenidos con éxito en cultivos o en ambientes con condiciones diferentes a las de su hábitat natural. Esto permite identificar distintos procesos de distribución de tóxicos entre áreas diferentes, mecanismos de detoxificación, tiempos de recuperación, etc.
- Son organismos con importancia comercial y económica, siendo por lo tanto la medición de la concentración de compuestos potencialmente tóxicos en sus tejidos de interés para la salud pública.

2.7 Toxicidad de los PAHs y efectos sobre los seres humanos

Los PAHs son contaminantes medioambientales de gran interés en el ambiente científico debido a su toxicidad y su alto potencial carcinogénico y mutagénico.

Las primeras investigaciones sobre la toxicidad de estos compuestos datan de 1775, cuando Sir Percival Pott constató un elevado índice de cáncer de escroto en deshollinadores de chimeneas en Londres. No obstante si bien se evidenció que el causante del cáncer era el hollín de las chimeneas no fue posible evidenciar cuales eran los compuestos responsables. En 1920, investigadores japoneses descubren que aplicando extractos de hollín sobre la piel de ratones, éstos desarrollaban

tumores de piel. Recién en 1930 fue posible atribuir estas patologías al benzo(a)pireno y al dibenzo(a,h)antraceno. Con el descubrimiento de la carcinogenicidad del benzo(a)pireno, dibenzo(a,h)antraceno y otros PAHs se produjo el inicio de una nueva era en la investigación biológica, la que tuvo como objetivo determinar la causa y la naturaleza del cáncer que estos compuestos provocan en los seres humanos (Vollhardt & Schore, 2007). A partir de ahí, las investigaciones han progresado hasta llegar a explicar los mecanismos de interacción de los PAHs en el organismo.

Los principales impactos de los PAHs sobre la salud humana se centran en sus propiedades genotóxicas (teratogénicas, mutagénicas y carcinogénicas), ya que ocasionan daños al material genético. Además de su actividad genotóxica, los PAHs pueden actuar como disruptores endócrinos, originando efectos adversos en la reproducción.

En base a toda la información existente en cuanto a los efectos nocivos y la elevada toxicidad de los PAHs en los seres vivos y el medio ambiente, numerosos PAHs (y mezclas que los contienen) han sido considerados como contaminantes peligrosos por las asociaciones y organismos gubernamentales internacionales más relevantes.

La Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (**IARC**, del Inglés: *International Agency for Research on Cancer*), dependiente de la Organización Mundial de la Salud (OMS) clasifica las sustancias en diferentes grupos según el riesgo de producir cáncer en el ser humano:

- **GRUPO 1:** El compuesto es cancerígeno para los humanos. En este grupo se incluye al Benzo(a)pireno.
- **Grupo 2A:** El compuesto es probablemente cancerígeno. En este grupo se incluye al Dibenzo(a,h)antraceno.
- **Grupo 2B:** El compuesto es posiblemente cancerígeno para los humanos. Aquí se incluyen el Naftaleno, Benzo(a)antraceno, Criseno, Benzo(b)fluoranteno Benzo(k)fluoranteno e Indeno(1,2,3,c-d)pireno.

- **Grupo 3:** El compuesto no es clasificable como cancerígeno para los humanos. En este grupo se encuentran el Acenafteno, Fluoreno, Fenantreno, Antraceno, Fluoranteno, Pireno y Benzo-ghi-Perileno.

La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (**US-EPA**) ha elaborado varias publicaciones relativas a la toxicidad y los efectos dañinos de los PAHs, incluyendo a los siguientes 16 PAHs como contaminantes prioritarios: Naftaleno, Acenafteno, Acentaftileno, Fluoreno, Fenantreno, Antraceno, Fluoranteno, Pireno, Benzo(a)antraceno, Criseno, Benzo(a)pireno, Benzo(b)fluoranteno, Benzo(k)fluoranteno, Indeno(1,2,3,c-d)pireno, Dibenzo(a,h)antraceno y Benzo-ghi-Perileno. De estos 16 PAHs reconoce como probables carcinógenos humanos a los siguientes: Benzo(a)pireno, Criseno, Benzo(b)fluoranteno, Benzo(k)fluoranteno, Benzo(a)antraceno, Indeno(1,2,3,c-d)pireno y al Dibenzo(a,h)antraceno, disponiendo de pruebas suficientes a partir de estudios en animales, pero con falta de información o pruebas inadecuadas a partir de estudios epidemiológicos (**grupo B2**). El Naftaleno es clasificado como posible carcinógeno humano, con pruebas limitadas en animales y ausencia de información en humanos (**grupo C**). El resto de los PAHs no se clasifican como carcinógenos humanos al no existir pruebas en humanos y animales o por ausencia información disponible (**grupo D**).

La Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades de Estados Unidos (**US-ATSDR**) ha elaborado una lista que incluye información de los efectos sobre la salud y toxicología de 17 PAHs en base a 4 factores: su toxicidad, el volumen de información existente sobre ellos, mayor riesgo de exposición y mayores concentraciones encontradas. Los compuestos incluidos en esta lista coinciden con los de la US-EPA excluyendo al Naftaleno e incluyendo el benzo(e)pireno y el benzo(j)fluoranteno.

3 ANTECEDENTES EN EL TEMA

Como se mencionó anteriormente el estudio de los PAHs y sus efectos en el ambiente marino son de alto interés en el ambiente científico. Debido a ello podemos encontrar trabajos que estudian los PAHs alrededor del mundo en diferentes matrices: sedimentos (Budzinski et al., 1997; Hartmann et al., 2004; Chen et al., 2013), agua (Zhou et al., 2003; Luo et al., 2004; Guitart et al., 2007; Botello et al., 2015), aire (Simcik et al., 1999; Galarneau, 2008; Carreras et al., 2013) y organismos diversos como moluscos (O'Connor, 1998; Baumard et al., 1998a,b, 1999a,b; Namiesnik et al., 2008; Sacchi et al., 2013), peces (Cheung et al., 2007; Abdolahpur et al., 2014; Zhao et al., 2014) y mamíferos (Malcolm & Shore, 2003; Kannan & Perrotta, 2008). Los máximos volúmenes de información referidos al estudio de los PAHs se hallan en Europa y Asia. En particular para Sudamérica, Brasil es el país con mayor volumen de información en los que respecta al estudio de los PAHs. Por el contrario, las costas argentinas no han sido intensamente estudiadas en cuanto a niveles de PAHs, de hecho sólo pocos estudios se han realizado sobre los más de 6000 Km de costa que presenta la Argentina (por ej., Colombo et al., 1989, 2005, 2006; Esteves et al., 2006; Commendatore & Esteves, 2007; Commendatore et al., 2012; Massara Paletto et al., 2008; Amin et al., 2011; Gil et al., 2014). Para el Estuario de Bahía Blanca existen varios antecedentes que aportan información sobre vigilancia química del sistema (Arias et al., 2009, 2010a, b), y que han permitido calificar la zona en cuanto a la contaminación por PAHs entre las zonas costeras extensivamente antropizadas con niveles medios de contaminación (de bajos a moderados) y zonas puntuales con altos niveles de contaminación por PAHs (Arias et al., 2010a). Como contrapartida, existe un hueco en el conocimiento del flujo de PAHs hacia la biota que habita el área de estudio; así, la información disponible sobre biomonitoreo, ingreso de PAHs a la cadena trófica del ecosistema, y de la existencia de fenómenos de bioacumulación y biomagnificación en la cadena trófica es prácticamente inexistente.

4 HIPÓTESIS DE TRABAJO

Basándose en los antecedentes documentados para el área de estudio en los cuales se ha caracterizado un estado dinámico de presencia y distribución de PAHs, se plantea que:

1. Los organismos filtradores nativos incorporan PAHs a una tasa que se correlaciona con el ingreso de PAHs a los sedimentos.
2. Los organismos filtradores nativos reflejan fielmente la dinámica de ingreso de los PAHs, revelando información de corto y mediano plazo que no ha sido sometida a fenómenos externos (por ej., meteorización, corrientes, dragados, etc.).
3. Los PAHs se bioacumulan en los organismos filtradores.
4. En sistemas de alta energía como el estuario de Bahía Blanca, los organismos filtradores se constituyen en excelentes indicadores ambientales de sustancias potencialmente tóxicas en comparación a los sedimentos del lecho estuarial.

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

El objetivo general del presente trabajo de Tesis Doctoral es estudiar, monitorear y consolidar el conocimiento del estado de impacto, flujo, transferencia a compartimentos bióticos e ingreso a la cadena alimentaria de PAHs, generando así información valiosa, inédita y estratégica aplicable a la gestión y manejo sostenible de los recursos costeros.

5.2 Objetivos específicos

- Ajustar las metodologías analíticas empleadas, tanto para el procesamiento como para la cuantificación de las muestras (especialmente en los "mejillines").
- Analizar la presencia de PAHs en sedimentos y mejillines nativos (*Brachidontes rodriguezii*) en los diferentes sitios seleccionados del estuario de Bahía Blanca y a lo largo del período de estudio.
- Identificar las posibles y principales fuentes de PAHs en las dos matrices.
- Determinar el potencial riesgo ecotoxicológico debido a los PAHs en el área.
- Evaluar y calcular factores de bioacumulación en los mejillines.
- Determinar la factibilidad de uso del mejillín *Brachidontes rodriguezii* como organismo centinela para el monitoreo del sistema acuático costero bajo estudio.

CAPÍTULO II: ÁREA DE ESTUDIO Y METODOLOGÍA

1 ÁREA DE ESTUDIO

Los estuarios, a pesar de ocupar un área reducida de la superficie terrestre, han sido y son factores esenciales en el desarrollo de las grandes civilizaciones, las cuales se han establecido a lo largo de sus márgenes siendo también claves en la actividad económica mundial (Perillo & Piccolo, 2014). Un estuario puede definirse *"como un cuerpo de agua costero semicerrado que se extiende hasta el límite efectivo de la influencia de la marea, dentro del cual el agua salada que ingresa por una o más conexiones libres con el mar abierto, o cualquier otro cuerpo de agua salino, es diluida significativamente con agua dulce derivada del drenaje terrestre y puede sustentar especies biológicas eurihalinas ya sea por una parte o la totalidad de su ciclo de vida"* (Perillo, 1995).

El Estuario de Bahía Blanca (EBB) se ubica entre los 38°45' y 39°25' de Latitud Sur y los 61°45' y 62°25' de Longitud Oeste, sobre el litoral sudoccidental de la Provincia de Buenos Aires, Argentina. Posee forma de embudo y su sección transversal decrece exponencialmente desde la boca hacia su cabecera. Presenta una longitud de 80 km y una superficie aproximada de 2300 km² y desde el punto de vista morfológico ha sido clasificado como un estuario de planicies costeras (Perillo & Piccolo, 1991) con números canales orientados en dirección noroeste-sureste, entre los cuales se destaca el Canal Principal de Navegación.

La principal fuente de energía del estuario proviene de las mareas. Presenta un régimen de mareas mesomareal, con una amplitud media que varía entre 2,2 y 4 metros, aumentando desde la boca hacia la cabecera ya que se trata de un estuario hipersincrónico (Perillo & Piccolo, 1991). Este ambiente está afectado por

un sistema de marea semidiurna lo cual provoca que durante muchas horas del día grandes extensiones del intermareal queden descubiertas. El área cubierta por agua durante la bajamar es aproximadamente 400 km², mientras que durante la pleamar la superficie cubierta es próxima a los 1200 km² (Perillo & Piccolo, 1991). Desde un punto de vista físico-geológico, la dinámica del ambiente condiciona la distribución de los materiales sedimentarios del estuario ya que la fuerte influencia de las condiciones marinas en conjunto con la ausencia de importantes aportes continentales hacen del sistema un ambiente en permanente estado de erosión (Perillo & Piccolo, 1999), situación que se evidencia en la dinámica de sus canales y en las extensas islas y planicies degradadas. Los sedimentos más finos (limos y arcillas) se transportan en suspensión dentro de la columna de agua originando elevados valores de turbidez, mientras que las arenas son trasladadas por la acción de las corrientes mareales sobre el fondo (Cuadrado et al., 2004). En cuanto a la distribución granulométrica, los sedimentos pueden ser clasificados como limosos en la cabecera del estuario y predominantemente arenosos en la boca del mismo, con variaciones limo-arcillosos a arcillo-limosos entre ambas zonas.

Los afluentes principales de agua dulce son el río Sauce Chico, que se ubica en la cabecera del estuario, y el arroyo Napostá Grande que desemboca a 1 Km de Ing. White (Piccolo et al., 2008). Existen otros tributarios menores (Arroyo Saladillo de García, Arroyo Maldonado, Arroyo Galván), pero sus aportes son intermitentes y sólo se vuelven significativos en periodos de alta precipitación local (Piccolo & Perillo, 1990). El aporte de agua dulce ha sido estimado en 4000 m³/día (Marcovecchio & Ferrer, 2005).

El estuario se caracteriza por un clima seco y templado, con una temperatura promedio que oscila los 15°C (Piccolo, 2008), caracterizado por una marcada estacionalidad con bajos y variables niveles de precipitación anual que se concentran en primavera y otoño. La zona se caracteriza por fuertes vientos, principalmente del sector noroeste y norte, los cuales influyen en forma directa sobre la altura y el oleaje de las mareas (Capelli de Steffens & Campo de Ferreras,

2004).

La temperatura del agua es un parámetro estable, oscilando estacionalmente entre 5,1 y 26,4°C (Freije et al., 2008). La salinidad crece desde la boca hacia la cabecera. En la zona interna es donde se observa la mayor variabilidad a lo largo del año, con valores que oscilan entre 17,9 y 41,3 y en verano generalmente se convierte en "hipersalino" (Freije et al., 2008) producto del escaso aporte de agua dulce, de la alta tasa de evaporación y de los patrones de circulación restringida que caracterizan a esa zona (Piccolo & Perillo, 1990, Freije et al., 2008).

El estuario de Bahía Blanca es considerado un sistema costero naturalmente eutrófico, con valores altos de nutrientes que se mantienen elevados la mayor parte del año (Freije et al., 2008). El contenido de materia orgánica en las aguas del estuario presenta altas concentraciones, que han sido asociadas en mayor medida a la producción primaria *in situ*, aunque otras fuentes como efluentes, ríos y arroyos también pueden contribuir con altos porcentajes de materia orgánica (Freije et al., 2008; Marcovecchio et al., 2008). El fitoplancton está caracterizado por pequeñas diatomeas que muestran un patrón anual repetitivo con una floración en invierno dominada por *Thalassiosira curviseriata* y otra en verano dominada por *Thalassiosira minima* (Gayoso, 1998, 1999; Guinder et al., 2012; López Abbate, 2014).

La zona interna del estuario de Bahía Blanca se encuentra bajo una importante presión antrópica, sostenida en las últimas décadas y que probablemente siga incrementándose. Sobre el veril Norte del Estuario de Bahía Blanca se ubican las ciudades de Bahía Blanca, General Daniel Cerri y Punta Alta, que presentan en conjunto una población de 362.000 habitantes (INDEC, Censo 2010). Sobre el estuario se ubica uno de los principales puertos de aguas profundas de Argentina, con 45 pies de profundidad. El complejo portuario abarca 25 km de extensión y está conformado por los puertos: Galván, Ingeniero White, Rosales y la Base Naval Puerto Belgrano. Este sistema portuario ofrece una salida directa al Océano Atlántico, razón por la cual es intensamente navegado por embarcaciones

pesqueras, buques regasificadores, buques de carga y de transporte de combustibles y cereales, lo cual requiere que el Canal Principal de Navegación sea sometido a dragados periódicos, incidiendo en la resuspensión, transporte y redistribución de sedimentos así como de las sustancias químicas que contienen (entre ellas, las potencialmente tóxicas). Entre los Puertos de Ingeniero White y Puerto Galván se encuentra el polo petroquímico más importante de Argentina. En dicho polo se ubican importantes empresas entre las que se destacan las productoras de cloro, soda cáustica, etano, naftas, fuel oil, gas oil, gasolina, asfalto, kerosén, PVC, polietilenos de diferente densidad. Cuenta también con plantas procesadoras de cereales y con la planta productora de amoníaco y urea granulada más grande de Sudamérica. Como consecuencia de la intensa actividad antrópica el estuario recibe el volcado constante y creciente de efluentes urbanos crudos y/o parcialmente tratados de los asentamientos aledaños, así como los efluentes de las industrias citadas anteriormente.

1.1 Especie propuesta como organismo centinela

El mejillín *Brachidontes rodriguezii* (d'Orbigny, 1842) es un molusco bivalvo perteneciente a la familia *Mytilidae* (Figura 2.1). Es el organismo dominante sobre los sustratos intermareales duros en el sudeste de la provincia de Buenos Aires (Adami et al., 2004). Está ampliamente distribuido en la zona de estudio lo cual facilita su muestreo y obtención. Cumple con las características requeridas para validar el uso de un organismo como bioindicador, y que ya fueron listadas en el capítulo anterior de esta Tesis. Por esta suma de condiciones se ha considerado a esta especie adecuada para realizar estudios de monitoreo e impacto ambiental en el área de estudio propuesta para este trabajo.



Figura 2.1. Imagen del mejillín *Brachidontes rodriguezii*.

2 DISEÑO Y SITIOS DE MUESTREO

A fin de abordar los objetivos generales y específicos propuestos en la sección anterior, se realizó un diseño de muestreo que constó de 6 campañas de trabajo a campo, a bordo de la lancha de investigación oceanográfica IADO IV, con una frecuencia trimestral, que comenzó en Octubre de 2011 y finalizó en Febrero de 2013 (Tabla 2.1). Se eligieron 6 sitios de muestreo que presentan diferente grado de impacto antrópico a lo largo del EBB (Figura 2.2). Los sitios seleccionados, desde la zona externa hacia la zona interna, fueron (Figura 2.3):

- **S1:** Ubicado en la pequeña localidad de Villa del Mar, sobre una pequeña marisma en la zona media del EBB, a solo 5km de la ciudad de Punta Alta, y a 20 km de la ciudad de Bahía Blanca. El sitio es utilizado principalmente por pescadores artesanales y con fines recreativos especialmente durante los meses cálidos.
- **S2:** El punto de muestreo se ubica aledaño a la Central Termoeléctrica *Luis Piedrabuena*, en la zona de Ingeniero White. Dicha central suministra energía eléctrica a partir de calderas que funcionan indistintamente con gas natural o fuel oil.

- **S3:** Antiguo Muelle de Hierro (en desuso) ubicado en Puerto Galván, en la zona más industrializada del Estuario, cercano al canal colector de efluentes industriales.
- **S4:** Ubicado en la zona aledaña a las dos Postas de Inflamables de Puerto Galván. En este sitio se transporta un volumen muy importante de los combustibles líquidos producidos por las empresas petroleras, y los productos gaseosos y petroquímicos producidos en el polo petroquímico de Bahía Blanca.
- **S5:** Puerto Cuatrerros, ubicado en la zona interna del Estuario, en cercanías de la ciudad de General Daniel Cerri, y a 15 km de la ciudad de Bahía Blanca. Es un pequeño puerto cuyas principales actividades son recreativas y de pesca artesanal.
- **S6:** Villarino Viejo. Es el sitio más interno del EBB y con menor impacto antrópico. Recibe influencia de agua dulce proveniente del Río Sauce Chico y del arroyo Saladillo de García, los cuales atraviesan numerosos campos agrícolas.

Tabla 2.1. Fechas de las campañas realizadas.

MUESTREO	FECHA	ESTACION	OBSERVACIONES
CAMPAÑA 1	18/10/2011	Primavera	Se obtuvieron muestras de sedimentos y mejillines en todos los sitios propuestos menos en S1 (debido a razones operacionales).
CAMPAÑA 2	05/03/2012	Verano	Se obtuvieron muestras de sedimentos y mejillines en todos los sitios de muestreo.
CAMPAÑA 3	01/06/2012	Otoño	Se obtuvieron muestras de sedimentos y mejillines en todos los sitios de muestreo menos en S3 (No se pudo acceder al sitio).
CAMPAÑA 4	06/08/2012	Invierno	Se obtuvieron muestras de sedimentos y mejillines en todos los sitios de muestreo.
CAMPAÑA 5	01/11/2012	Primavera	Se obtuvieron muestras de sedimentos y mejillines en todos los sitios de muestreo.
CAMPAÑA 6	23/02/2013	Verano	Se obtuvieron muestras de sedimentos y mejillines en todos los sitios de muestreo.

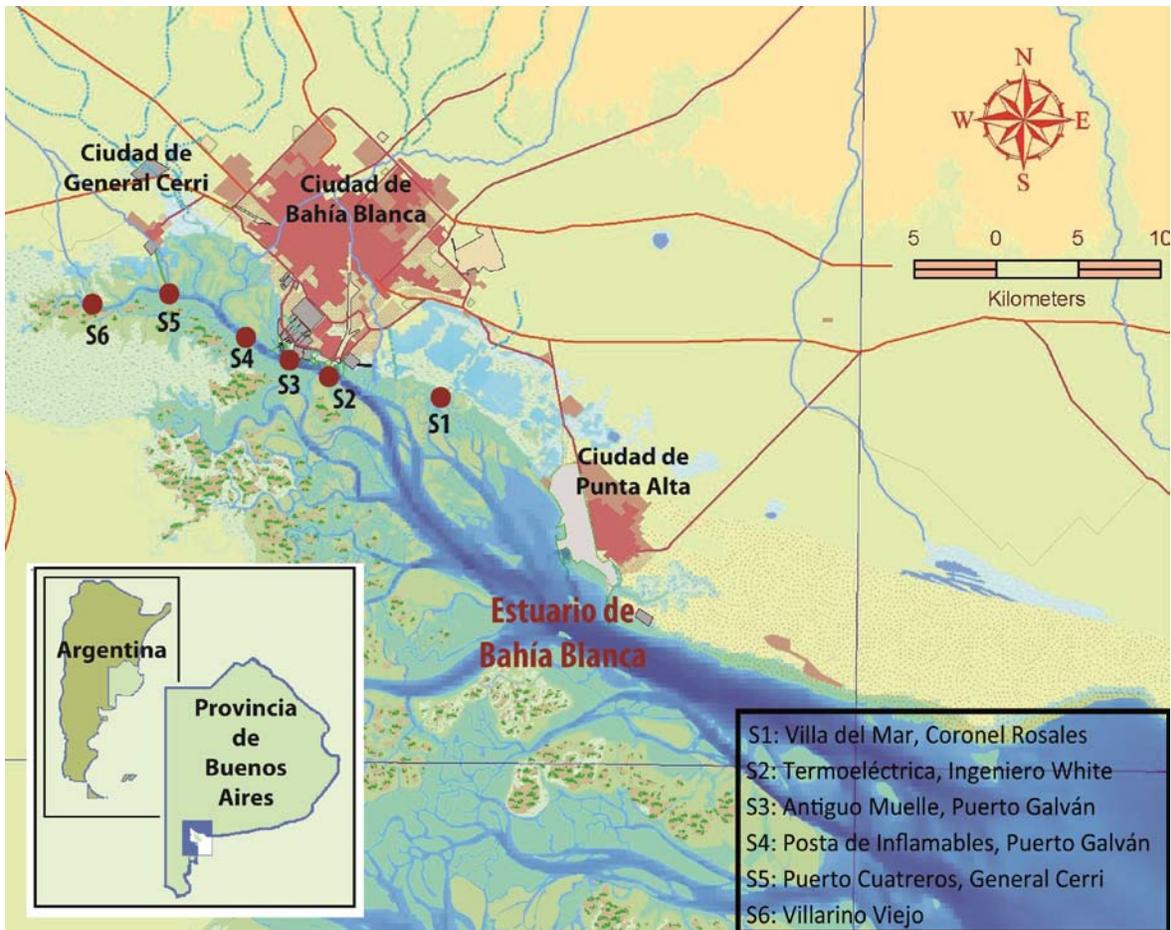


Figura 2.2. Mapa de área de estudio con la ubicación de los sitios de muestreo.

En cada sitio de muestro se realizaron las siguientes tareas (Figura 2.4):

- **Obtención de sedimentos superficiales.** Se obtuvieron manualmente muestras de sedimentos superficiales (aproximadamente 5 metros de profundidad), utilizando un cucharón de acero inoxidable. Las muestras fueron guardadas en frascos de vidrio (previamente lavados con detergente no iónico, hexano y acetona), refrigeradas a bordo, y posteriormente almacenados a -17°C hasta su procesamiento.

- **Obtención de mejillines** (*Brachidontes rodriguezii*). Las muestras de mejillines fueron obtenidas manualmente de sus bancos naturales, en condiciones de bajamar. Los organismos obtenidos fueron lavados con agua destilada y almacenados a -17°C hasta su procesamiento.
- **Determinación de los parámetros fisicoquímicos del agua superficial.** En cada estación de muestreo se determinaron los parámetros fisicoquímicos del agua mediante una sonda multisensor HORIBA U-10. Los siguientes parámetros fueron determinados: pH, temperatura, turbidez y salinidad.

S1



S2



S3



S4



S5



S6



Figura 2.3. Fotos sitios de muestreo seleccionados.



Figura 2.4. Fotos obtención de muestras durante las campañas de muestreo.

3 METODOLOGÍA

3.1 Sedimentos

Para esta matriz se procedió a realizar la determinación de humedad, materia orgánica, Carbono orgánico, fraccionamiento granulométrico y determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos. A continuación se detallan los diferentes protocolos utilizados en cada determinación.

3.1.1 Determinación de Humedad:

La humedad de las muestras se determinó gravimétricamente. Para ello las muestras de sedimento fueron secadas en estufa a 105°C hasta peso constante. Luego por diferencia de peso se obtuvo el porcentaje de humedad de las muestras.

3.1.2 Determinación de Carbono Orgánico

La determinación de Carbono Orgánico fue realizada mediante el empleo de un analizador de Carbono y Nitrógeno (Carlo Erba). Previo a la determinación, los carbonatos fueron removidos empleando ácido clorhídrico concentrado. Estas determinaciones fueron realizadas en el "Laboratório de Ciências Ambientais de la Universidad Estadual do Norte Fluminense (LCA-UENF)", en Campos dos Goytacazes (Rio de Janeiro, Brasil).

3.1.3 Granulometría de los sedimentos

La granulometría de los sedimentos se realizó mediante un analizador de partículas *Malvern Mastersizer 2000*, utilizando el método de difracción láser. Previamente se

procedió a la eliminación de materia orgánica, tratando la muestra con peróxido de hidrógeno al 50%.

3.1.4 Extracción y preconcentración de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en sedimentos

Las muestras fueron procesadas siguiendo el método propuesto por la US-EPA (método 3540C). Para ello, 10 g de sedimento fueron homogenizados y secados químicamente -usando Na_2SO_4 como desecante- en mortero de porcelana, e introducidos en cartuchos de celulosa. Previo a la extracción, se agregaron 100 μl de Estándar Subrogado (Naftaleno- d_8 , Acenafteno- d_{10} , Fenantreno- d_{10} y Criseno- d_{12}).

La extracción se realizó mediante dispositivos Soxhlet, con una mezcla de hexano-acetona 1:1 durante 12 hs. Posteriormente los extractos obtenidos fueron concentrados en un evaporador rotatorio (rotaevaporador), bajo condiciones de presión negativa y temperatura menor a 45°C hasta 5 mL. Finalmente los extractos fueron llevados a un volumen de 1,5 mL bajo corriente de Nitrógeno de alta pureza.

3.1.5 Limpieza de extractos

A fin de eliminar impurezas que dificultan la obtención de cromatogramas limpios, los extractos fueron limpiados ("*clean-up*") mediante columnas de vidrio de 1 mm de diámetro rellenas con 10 g de sílica y 5 g de alúmina, desactivadas al 5% con agua. Luego de la siembra de los extractos en las columnas, los PAHs fueron eluidos con 70 mL de hexano-Diclorometano (9:1). Luego los eluidos obtenidos fueron concentrados hasta 5 mL en el rotaevaporador, continuando su concentración con Nitrógeno puro, y trasvasándolos a viales color ámbar de 2 mL. Previo a la inyección de las muestras en el cromatógrafo se les adicionó 100 μL de

benzo(a)antraceno-d₁₂ (2000 ng/mL) como estándar interno, para evaluar el porcentaje de recuperación.

3.1.6 Determinación de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos por Cromatografía Gaseosa-Espectrometría de Masas.

La cuantificación e identificación de los PAHs en los sedimentos se realizó mediante el empleo de un cromatógrafo gaseoso (Agilent 7890 B) acoplado a un detector de masas (Agilent 5977 A). Se empleó una columna de sílice HP-5MS (30 m; 0,25 mm d.i.; 0,25 µm espesor de fase estacionaria), usando helio (calidad 5.0) como gas portador. Las muestras fueron inyectadas manualmente (1µL) en el modo "splitless" a una temperatura de 250°C. El tiempo de corrida de cada muestra fue de 20,5 minutos, utilizando la siguiente rampa de temperaturas: T inicial 70°C por 2 minutos; calentamiento hasta 150°C a una tasa de 30°C/minuto; luego calentamiento hasta 310°C a una tasa de 4°C/minuto; y, finalmente 310°C durante 10 minutos.

El espectrómetro de masas fue operado en el modo de monitoreo selectivo de iones (SIM) y modo de ionización por impacto de electrones (70eV). El monitoreo de iones se seleccionó de acuerdo a las recomendaciones propuestas por la US-EPA (Método 8270D).

Adicionalmente se corroboró la identificación de cada PAH individual con los tiempos de retención y la abundancia de los iones característicos obtenidos con estándares de PAHs certificados (Tabla 2.2).

Tabla 2.2. Iones característicos de los 17 PAHs analizados y de los estándares deuterados empleados.

COMPUESTO	ION PRIMARIO	IONES SECUNDARIOS
NA-d ₈	136	68
NA	128	129/127
2-M-NA	142	141
ACY	152	151/153
ACE-d ₁₀	164	162/160
ACE	154	153/152
FL	166	165/167
PHE-d ₁₀	188	94/80
PHE	178	179/176
AN	178	176/179
FLU	202	101/203
PYR	202	202/203
BaA-d ₁₂	240	
BaA	228	229/226
CHR-d ₁₂	240	226/229
CHR	229	226/230
BbF	252	253/125
BkF	252	253/125
BaP	252	253/125
IP	276	138/277
DBA	278	139/279
BPE	276	138/277

Para la cuantificación de los PAHs se utilizaron:

- ✓ **Patrón de calibración:** La solución de PAHs certificada (Absolute Standards #51073, Inc. 44 Rossotto Drive Hamden, CT 06514, USA; concentración de cada componente 2000 µg/mL), incluyó los siguientes compuestos: Naftaleno, 2-Metil-naftaleno, Acenafteno, Acenaftileno, Fluoreno, Fenantreno, Antraceno, Fluoranteno, Pireno, Benzo(a)antraceno,

Criseno, Benzo(b)fluoranteno, Benzo(k)fluoranteno, Benzo(a)pireno, Indeno(1,2,3-c,d)pireno, Dibenzo(a,h)antraceno y Benzo-ghi-Perileno.

✓ **Estándar Subrogado:** CUS-5954 (Naftaleno-d₈; Acenafteno-d₁₀; Fenantreno-d₁₀; Criseno-d₁₂; concentración de cada componente 1000 µg/mL). A partir de la solución original se preparó una solución de trabajo de 20000 ng/mL. A cada muestra (previo al proceso de extracción y preconcentración) y nivel de calibración se les agregó 100 µl de esta solución.

✓ **Estándar Interno:** Benzo(a)pireno-d₁₂ (Absolute Standards; concentración 2000 µg/mL). A partir de la solución original se preparó una solución de trabajo de 20000 ng/mL. Antes de la inyección en el cromatógrafo se le agregó a cada extracto de muestra y a cada nivel de calibración 100 µl de esta solución.

Durante el trabajo se observó que el estándar subrogado CUS-5954 resultó de baja calidad, por lo que se decidió no utilizarlo para las cuantificaciones, empleando solamente Fenantreno-d₁₀ para evaluar el porcentaje de recuperación correspondiente. Es así que la cuantificación de cada PAHs individual se realizó mediante la técnica del estándar externo. Para ello se realizó una curva de calibrado a partir de una solución de PAHs certificada, mediante diluciones sucesivas de la misma. Así se prepararon 7 soluciones de calibración (Tabla 2.3).

Tabla 2.3. Niveles de calibración y concentración de los estándares subrogados empleados para la cuantificación de los PAHs.

	Concentración de cada PAH individual (ng/mL)	Concentración de St. Interno (ng/mL)	Concentración de St. subrogado (ng/mL)	Volumen Final (mL)
NIVEL 1	125	2000	2000	2.00
NIVEL 2	375	2000	2000	2.00
NIVEL 3	625	2000	2000	2.00
NIVEL 4	1000	2000	2000	2.00
NIVEL 5	1250	2000	2000	2.00
NIVEL 6	1750	2000	2000	2.00
NIVEL 7	2000	2000	2000	2.00

Una vez inyectados los niveles de calibración y obtenidos los cromatogramas correspondientes, se procedió a armar las curvas de calibrado para cada PAH individual. Las curvas fueron ajustadas mediante la técnica de Mínimos Cuadrados Ordinarios, obteniendo valores de $R^2 > 0.97$ para todos los PAHs. Luego utilizando las curvas realizadas se determinaron las concentraciones de cada PAHs individual en las muestras y se calcularon las concentraciones finales teniendo en cuenta la masa (g de matriz -sedimento/biota) extraídos.

3.1.7 Evaluación del % de recuperación:

La utilización de estándares internos permite calcular la recuperación de los estándares subrogados, así como evaluar la efectividad del método empleado. Si el agregado de los estándares subrogados e internos se hace correctamente, las concentraciones de los mismos en el extracto final y en las soluciones de calibración serán iguales, independientemente del volumen final del extracto. Así las áreas correspondientes a uno y a otro deberían ser similares. La razón entre estándar subrogado y estándar interno en las soluciones de calibración representaría así una recuperación ideal del 100%. Una regla de tres simple

utilizando como referencia cualquiera de esas soluciones de calibración, o mejor aún, utilizando el promedio de todas las soluciones de calibración nos permite calcular la recuperación del estándar subrogado en la muestra. El rango de % de recuperación para todas las muestras varió en un rango de 74 a 105%.

3.1.8 Controles de calidad

Todo el material empleado fue lavado con detergente no iónico y enjuagado con agua destilada. El material de vidrio fue secado en estufa a 100°C. Previo a su uso se realizaron tres enjuagues con solventes orgánicos (hexano-acetona-diclorometano).

En cada serie de Soxhlet (cada *batch* de 6 muestras) se agregó un **blanco de procesamiento**. Para ello se utilizó un cartucho de celulosa sin material a analizar (sedimento o mejillín) y se procesó siguiendo el mismo procesamiento que el que recibieron las muestras.

Todos los solventes empleados fueron de calidad cromatográfica. Para comprobar la inexistencia de impurezas que puedan interferir en los resultados se inyectó solvente puro en el cromatógrafo (**blanco de solvente**).

Para evaluar el correcto funcionamiento del cromatógrafo, así como la limpieza de la columna cromatográfica se realizó un blanco instrumental cada día que se utilizó el equipo y/o después del procesamiento de muestras con niveles elevados de PAHs.

La calidad analítica de los resultados obtenidos se controló mediante el empleo de material de referencia certificado. Para los sedimentos se utilizó el SRM-NIST 1944 y para mejillones el SRM-NIST 2977.

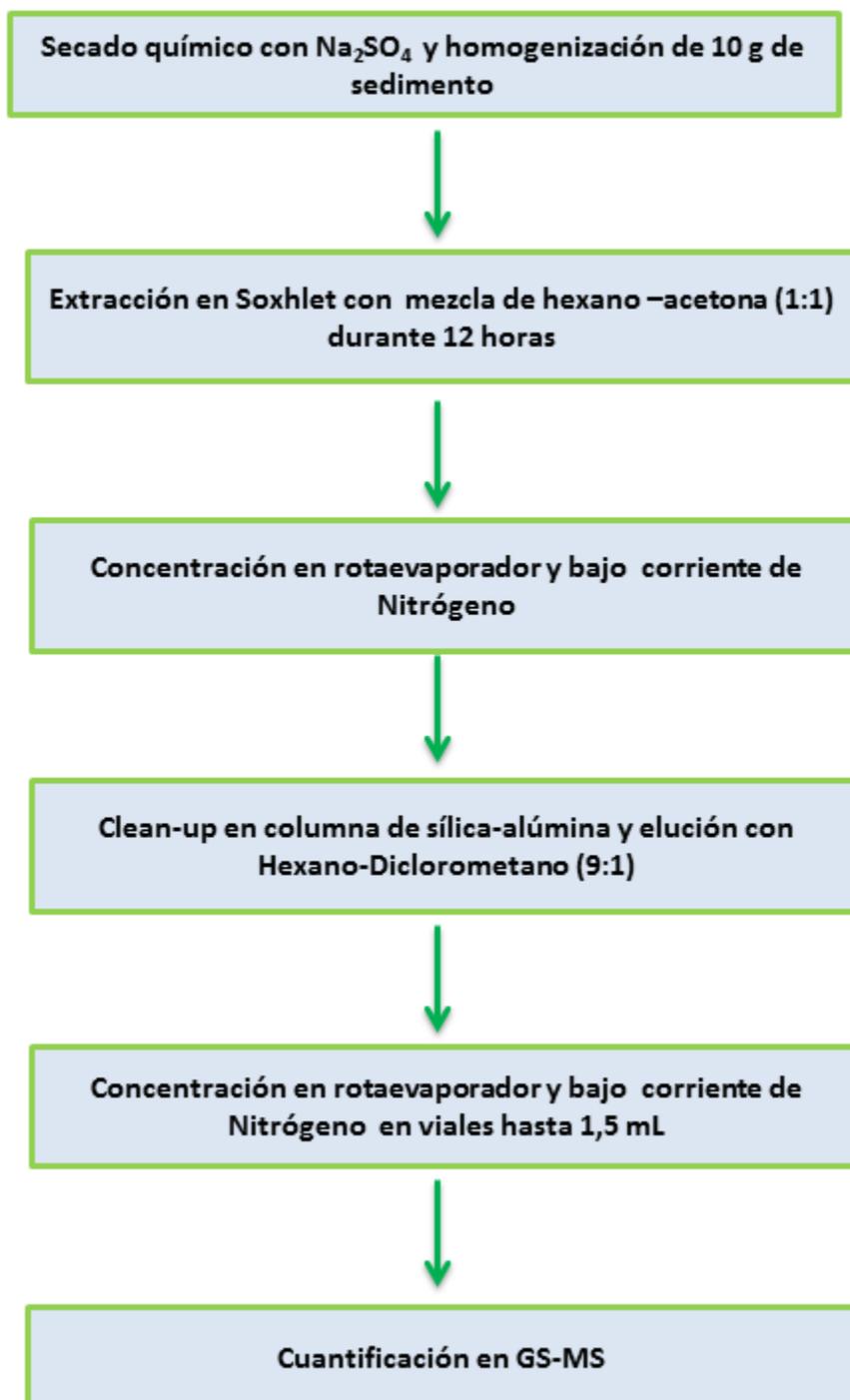


Figura 2.5. Protocolo de extracción empleado para la determinación de PAHs en los sedimentos.

3.2 Mejillines

Durante las 6 campañas de muestreo se obtuvieron manualmente muestras de mejillines (*B. rodriguezii*) a partir de los bancos naturales existentes en los 6 sitios de muestreo, en condiciones de bajamar. Los organismos se mantuvieron refrigerados hasta su llegada al laboratorio y posterior procesamiento. En cada sitio de muestreo se obtuvieron entre 80 y 100 individuos. Para lograr una homogenización de los organismos obtenidos se trató de seleccionar organismos con un tamaño que osciló entre 25-40 mm de longitud.

3.2.1 Caracterización biológica de los organismos

A continuación se detallan las diferentes mediciones y/o determinaciones realizadas a fin de describir el estado de los organismos seleccionados para el estudio.

- Determinación de longitud, humedad y peso.

Cada individuo fue medido en su longitud mediante el empleo de un calibre electrónico. Posteriormente las valvas fueron removidas y separadas de los tejidos blandos. Cada tejido blando fue pesado con balanza analítica y posteriormente liofilizado. La diferencia de peso obtenida entre el tejido liofilizado y el húmedo permitió calcular el % de humedad de cada individuo.

- Índice de condición (IC)

Para calcular el índice de condición las valvas fueron secadas en estufa a 60°C hasta peso constante. El índice de condición se calculó según Couillard et al. (1995) como:

$$IC = (\text{peso seco del tejido blando total} / \text{peso seco de las valvas}) * 100$$

- Determinación de lípidos totales.

La determinación de lípidos totales se realizó por duplicado sobre el tejido total siguiendo el método gravimétrico de Bligh & Dyer (1959) con algunas modificaciones. Para ello se homogenizaron 35 individuos y se tomaron 10 g de tejido, que fueron extraídos con 30 mL de una mezcla de cloroformo-metanol (1:2), se agitó y posteriormente se agregaron 10 mL cloroformo y 10 mL de agua destilada, agitando nuevamente. Posteriormente se filtró bajo leve presión con papel Whatman N°1. Se dejaron separar las fases obteniendo dos: una fase superior compuesta de agua, metanol e impurezas y la fase inferior clorofórmica que contiene los lípidos. Esta última fase se recogió en una probeta previamente pesada en balanza analítica. Posteriormente se procedió a evaporar el cloroformo en rotaevaporador a 60°C, completando el secado en estufa a 60°C. Se dejó enfriar y se pesó hasta obtener peso constante. Luego se obtienen el % de lípidos presentes mediante el empleo de la siguiente fórmula:

% de lípidos: (peso probeta + lípidos – peso probeta)*100/ peso de tejido empleados

Los % de lípidos se expresan como g de lípidos/g de tejido seco. Para ello los pesos de tejido empleado (húmedos) fueron ajustados según su contenido de humedad.

3.2.2 Determinación de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en mejillines

En el laboratorio los mejillines fueron lavados con agua destilada para eliminar restos de partículas y sedimento. Posteriormente se procedió a armar *poles* de 40-45 individuos. Se obtuvieron los tejidos blandos totales y se los homogenizó mediante el empleo de una procesadora mecánica (*Minipimer*). Posteriormente los

tejidos fueron liofilizados durante 48 horas. Una vez secos los tejidos fueron homogenizados en morteros de porcelana. 5g de tejido se colocaron en cartuchos de celulosa y se agregaron 100 µl de Estándar Subrogado (Naftaleno-d₈, acenafteno-d₁₀, fenantreno-d₁₀ y criseno-d₁₂). Para la determinación de PAHs en mejillines se utilizó el método propuesto por la UNEP (1993). La extracción se inicia con un paso previo de saponificación. Para ello las muestras son extraídas en dispositivos Soxhlet con 250 mL de Metanol durante 8 horas. Posteriormente se retira el cartucho de extracción, se añaden 30 mL de Agua MiliQ y 20 mL de NaOH 0.7 M, y se continúa la extracción durante 2 horas más.

Los extractos obtenidos fueron transvasados cuantitativamente desde el matraz de extracción a ampollas de decantación. Se adicionaron 90 mL de hexano, se agitó empleando un agitador durante 10 min, y se dejó separar las fases. Luego, la fase superior hexánica se colectó en un matraz de 250 mL. Este proceso de extracción se repitió dos veces más con 50 mL de hexano. Finalmente, la fase hexánica fue filtrada con Na₂SO₄ y concentrada en rotaevaporador hasta 5 mL cuidando que la temperatura del baño no supere los 40°C.

Posteriormente se realizó la limpieza de los extractos y la cuantificación mediante los mismos métodos empleados y explicados en la sección de sedimentos.

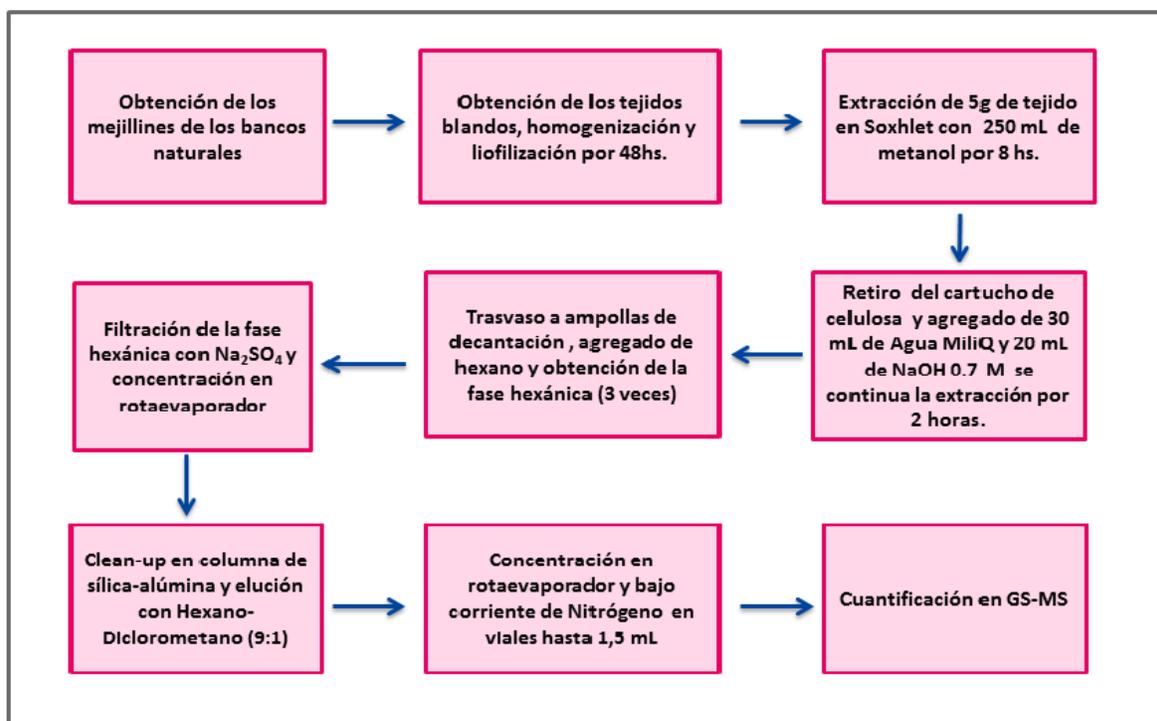


Figura 2.6. Protocolo para la determinación de PAHs en los mejillines.

CAPÍTULO III: HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN SEDIMENTOS SUPERFICIALES

1 NIVELES DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN SEDIMENTOS SUPERFICIALES

Durante el período de estudio se obtuvieron 34 muestras de sedimento superficiales. Todas las muestras presentaron cantidades detectables de PAHs en un rango variable desde 19,7 hasta 30054,6 ng/g, p.s (peso seco), con una media global de 1798,5 ng/g, p.s (expresados como la suma de los 17 PAHs analizados). La Tabla 3.1 resume los valores de PAHs hallados durante el periodo de estudio.

Como se muestra en la Figura 3.1 los máximos valores de PAHs se hallaron en el sitio S3 ubicado en Puerto Galván donde se concentra la mayor actividad portuaria-industrial y el canal colector de efluentes industriales. Para este sitio se obtuvo un amplio rango de concentraciones de PAHs totales, desde 190 hasta más de 30.000 ng/ g, p.s. En el resto de los sitios los valores hallados fueron menores, mostrando una tendencia a disminuir a medida que aumentaba la distancia a los sitios industriales o más densamente poblados. Esto concuerda con la tendencia observada y reportada a nivel mundial para diferentes ambientes (Lipiatou & Saliot, 1991; Miles & Delfino, 1999), así como con los antecedentes actualmente existentes para el área (Arias et al., 2010a).

En concordancia con lo dicho en el párrafo anterior, los valores más bajos se obtuvieron en el sitio S1, ubicado en Villa del Mar (Figura 3.1), con una media global de 112,4 ng/g, p.s. Villa del Mar se localiza en la zona media del Estuario, siendo el sitio de muestreo más alejado del núcleo industrial y con una baja influencia antrópica. Su uso principal es la pesca artesanal y la recreación, especialmente durante los meses de verano.

Baumard et al. (1998a) propuso una clasificación de sedimentos basada en sus contenidos de PAHs, que incluía los siguientes niveles: contaminación baja (10-100 ng/g), moderada (100-1000 ng/g), alta (1000-5000 ng/g) y muy alta (> 5000 ng/g). De acuerdo a este criterio los niveles de PAHs hallados en el presente trabajo pueden ser clasificados desde moderados (S1, S2, S4, S5 y S6) hasta muy altos (S3).

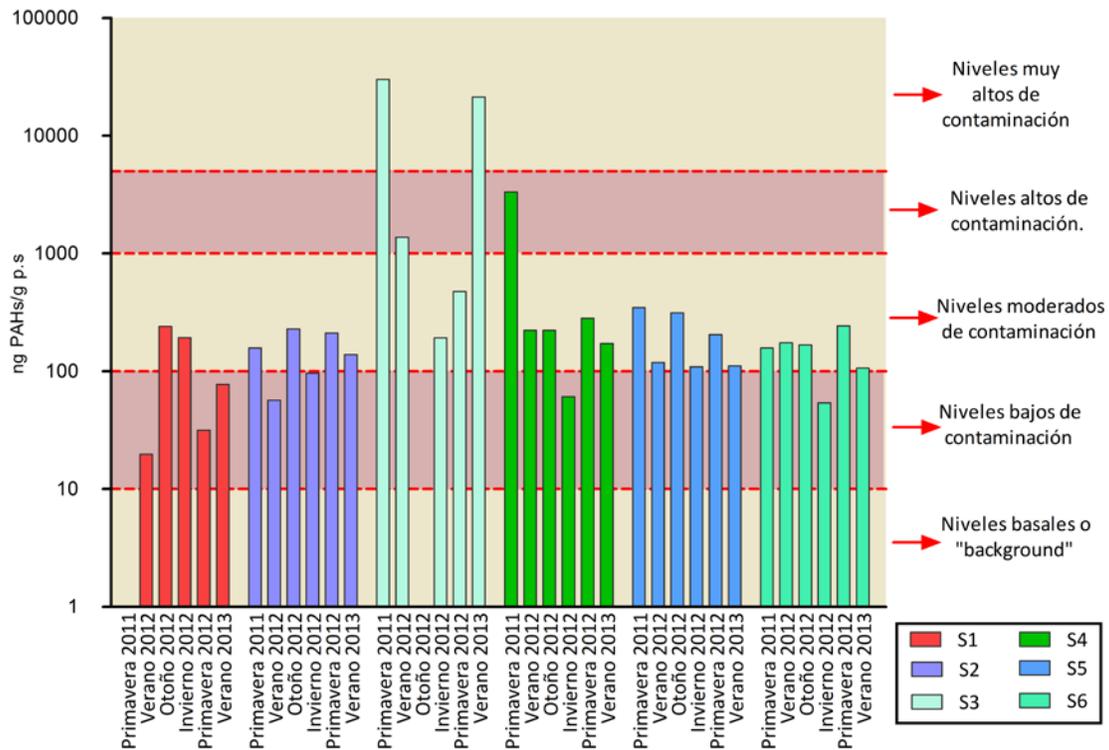


Figura 3.1. Niveles de PAHs totales en los sedimentos del Estuario de Bahía Blanca.

Tabla 3.1. Rango de valores de PAHs hallados en los sedimentos superficiales del Estuario de Bahía Blanca.

	S1 (n=5)	S2 (n=6)	S3 (n=5)	S4 (n=6)	S5 (n=6)	S6 (n=6)
NA	<LD ¹ -40,3	<LD-38,4	9,3-1451,2	<LD -57,9	<LD-57,3	<LD-36,8
2-M-NA	<LD-10,8	<LD-18,5	<LD-848,2	<LD-17,2	<LD-24,6	<LD-14,2
ACY	<LD-1,3	<LD	<LD-62,0	<LD	<LD	<LD
ACE	<LD	<LD	<LD-2873,4	<LD	<LD	<LD-38,8
FL	<LD-29,5	<LD-19,9	<LD-1830,9	9,5-59,0	<LD-41,2	<LD-45,8
PHE	<LD-62,0	7,1-78,7	50,7-4478,4	12,4-98,1	12,3-70,8	6,3-55,1
AN	<LD-7,3	<LD	<LD	<LD	<LD-8,3	<LD
FLU	4,7- 19,5	<LD-28,8	<LD-5164,6	8,4-57,2	<LD-19,0	<LD-23,4
PY	1,1-27,8	8,0-47,9	39,6-4776,0	13,3-98,2	12,3-55,4	<LD-44,3
BaA	<LD-9,6	<LD-8,4	<LD-1726,2	<LD-107,8	<LD	<LD
CHR	2,5-14,9	5,8-16,8	17,4-3034,8	<LD-117,6	<LD-45,5	8,2-40,5
BbF	<LD-10,2	<LD-11,2	1,8-2224,6	0,7-147,9	<LD-17,6	1,7-8,9
BkF	<LD-6,0	<LD-6,4	0,9-1632,8	<LD-133,6	<LD-14,4	<LD-2,2
BaP	<LD-11,5	<LD-0,9	<LD-1068,3	<LD-193,0	<LD-21,1	<LD-3,5
IP	1,0-17,2	<LD-17,1	1,7-951,3	0,5-758,6	<LD-23,0	1,3-15,0
DBA	<LD-13,2	<LD-1,8	<LD-192,2	<LD-801,9	<LD-40,3	<LD-6,3
BPE	1,9-17,3	<LD-32,5	3,1-736,8	0,8-737,5	<LD-58,1	<LD-14,7
Total PAHs	19,7-240,8	56,9-228,2	191,6-30054,6	60,9-3323,3	109,1-347,2	54,1-243,0
ΣLMW²	3,4-142,0	27,0-138,8	109,4-10410,2	28.4-170.0	44,6-164,6	16,0-110.2
ΣHMW³	16,4-141,8	24,6-130,8	82,16-19644,4	32,0-3153,3	49,3-252,4	37,6-142,2

¹<LD: Menor al límite de detección;

²ΣLMW: Sumatoria de NA, 2-M-NA, ACY, ACE, FL, PHE y AN

³ΣHMW: Sumatoria de FLU, PY, BaA, CHR, BbF, BkF, BaP, IP, DBA y BPE

Resultados expresados en ng/g, p.s. de sedimento.

2 RELACIÓN ENTRE LOS PAHs Y LAS VARIABLES FISICOQUÍMICAS DEL SEDIMENTO

Cuando se evalúan las concentraciones de PAHs en sedimentos resulta de importancia tener en cuenta ciertas características de la matriz, como son su contenido de carbono orgánico (TOC) y granulometría, ya que estas variables pueden influenciar la distribución de los compuestos estudiados en dicha matriz. Ambos parámetros fueron analizados con el fin de evaluar el rol de las propiedades fisicoquímicas sobre la distribución de los PAHs en los sedimentos superficiales del estuario de Bahía Blanca.

2.1 Relación entre los PAHs y el Carbono Orgánico

El contenido de carbono orgánico en muestras de sedimento es en general un parámetro muy importante ya que por sus características de lipofilicidad e hidrofobicidad, los PAHs tienden a adsorberse en aquellos sedimentos que presentan mayor contenido de materia orgánica.

Para evaluar la existencia de esta relación, se determinó el TOC en todas las muestras de sedimento obtenidas. La Figura 3.2 muestra los valores de TOC hallados para las 34 muestras obtenidas en el área de estudio. El rango de valores determinados fluctuó entre 0,56 a 1,39%, sin un patrón claramente establecido a nivel estacional. Los máximos valores fueron hallados para el sitio próximo al área de máxima actividad industrial (S3), seguido por Villa del Mar (S1).

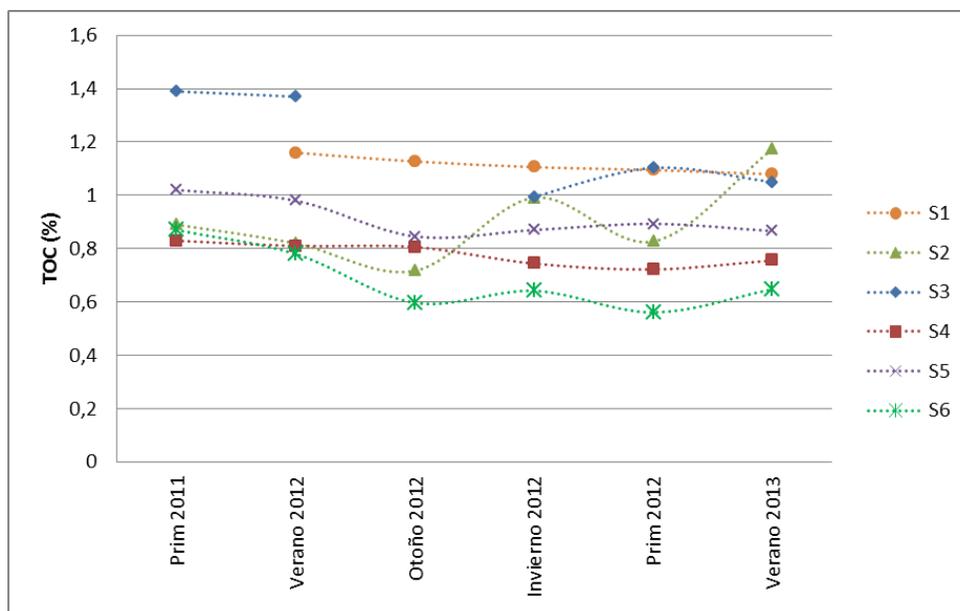


Figura 3.2. Distribución del TOC (%) en los sedimentos del EBB.

En la literatura específica hay informes muy erráticos sobre la relación entre el carbono orgánico y la concentración de los hidrocarburos aromáticos policíclicos, y las correspondientes conclusiones no son de ninguna manera definitivas. Así, mientras en muchos trabajos se ha demostrado la existencia de una relación lineal entre las concentraciones de PAHs y el contenido de materia orgánica (por ej., Viguri et al., 2002; Culotta et al., 2006; Chen et al., 2013, He et al., 2014), otros no han podido registrar este tipo de correlaciones o las encontradas han sido muy débiles (por ej., Guzzella et al., 2005; Ünlü et al., 2006; Gu et al., 2013; Wang et al., 2014; Keshavarzifard et al., 2014). Simpson et al. (1996) concluye que la relación entre los niveles de PAHs totales y el contenido de materia orgánica presente en los sedimentos es significativa sólo para sitios altamente contaminados, que presentan niveles de PAHs >2000 ng/g p.s.

En cuanto a los resultados obtenidos para el área de estudio, si bien los máximos valores de TOC fueron encontrados en el sitio S3 -en donde también se hallaron los máximos valores de PAHs- no pudo evidenciarse una correlación estadísticamente significativa (Figura 3.3) entre los niveles de PAHs y el TOC

(Coeficiente de correlación de Spearman: $r=0,13$ $p<0,050$). La falta de correlación estaría indicando un estado de no equilibrio en los procesos de sorción- desorción entre los PAHs y el contenido de Carbono en los sedimentos del Estuario de Bahía Blanca.

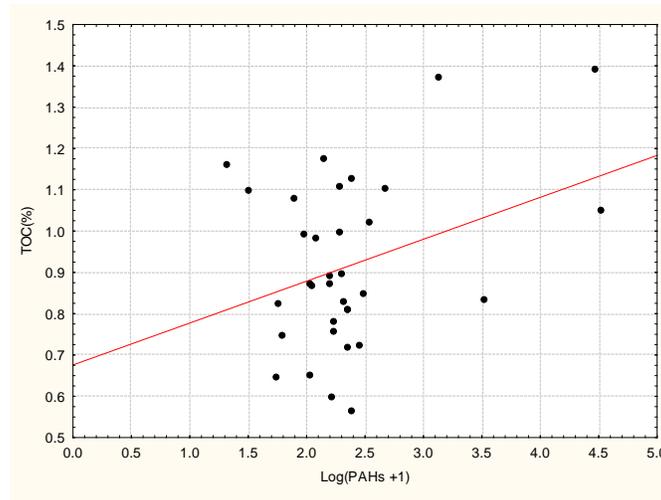


Figura 3.3. Relación entre los valores de PAHs y el TOC.

Varios autores (Guinan et al., 2001; Guzzella et al., 2005; Ünlü et al., 2006) concuerdan en que una posible explicación a la ausencia de correlación entre las concentraciones de PAHs y el contenido de carbono es que los altos niveles de materia orgánica producidos por sedimentos con alta productividad y diversidad en la comunidad bentónica pueden enmascarar las relaciones que pudieran existir entre las concentraciones de PAHs y el TOC. Aplicando esta propuesta al estuario de Bahía Blanca se puede considerar que este está caracterizado por su alta productividad (Freije et al., 2008) y por la presencia de numerosas y diversas comunidades bentónicas, muchas de las cuales tienen una alta capacidad de remoción de sedimentos (Elias et al., 2004). Estas características podrían contribuir a la ausencia de una relación entre los niveles de PAHs y el contenido de carbono.

Otra probable explicación a la ausencia de correlación es que la incorporación de PAHs en el área de estudio esté más influenciada por aportes antropogénicos

puntuales que por procesos naturales, y que esta situación se encuentre enmascarado una posible relación entre los PAHs y el TOC. En este sentido, Katsoyiannis (2006) ha propuesto que para ambientes en los que se producen ingresos continuos de aportes antropogénicos, la falta de correlación entre el contenido de carbono y las concentraciones de contaminantes orgánicos (PAHs, PCBs, etc.) es esperable, al menos hasta que se logre alcanzar un estado de equilibrio.

2.2 Relación entre los PAHs y la granulometría

Al evaluar la concentración de PAHs en los sedimentos es muy importante conocer y considerar ciertas características fisicoquímicas de esta matriz, como su granulometría. En efecto, numerosos estudios (por ej., Zhang et al., 2004; Huang et al., 2012; Chen et al., 2013; He et al., 2014) han encontrado que las concentraciones de PAHs en sedimentos pueden estar afectadas por el porcentaje de grano fino presente en esta matriz. Generalmente las partículas más pequeñas tienen una mayor relación superficie/volumen que las partículas más grandes, y en consecuencia tienen una mayor capacidad para contener más carbono orgánico, pudiendo sustentar y adsorber mayor cantidad de PAHs (Chiou et al., 1998).

En la Tabla 3.2 se presentan los resultados obtenidos del análisis granulométrico realizado para los sedimentos superficiales de los 6 sitios de muestreo seleccionados para el presente trabajo, expresados en porcentajes. De manera similar que para el TOC, la granulometría no evidenció una correlación lineal con los niveles de PAHs (Coeficiente de correlación de Spearman $r=0,20$ para limo, $r=0,54$ para arcilla y $r=-0,54$ para arena; $p<0,050$). La falta de correlación puede ser atribuida por un lado a la alta variabilidad en la dinámica de deposición de los sedimentos causada por las altas tasas de transporte de los sedimentos del Estuario de Bahía Blanca (Perillo & Piccolo, 1991) y a la removilización que se produce en los sedimentos como consecuencia del dragado periódico que se realiza sobre el lecho estuarial.

Tabla 3.2. Análisis granulométrico de los sedimentos estudiados. Resultados expresados en porcentajes (%).

Fracciones	Arcilla ($< 39 \mu\text{m}$)	Limo ($39-63 \mu\text{m}$)	Arena ($> 63 \mu\text{m}$)	Clasificación
Sitios				
S1	18,7	60,1	21,2	Franco limoso
S2	12,1	56,7	31,2	Franco limoso
S3	29,5	58,1	12,4	Franco arcilla limoso
S4	18,7	55,6	25,7	Franco limoso
S5	30,6	52,4	17,0	Franco arcilla limoso
S6	27,6	49,5	22,9	Franco arcilloso

3 COMPOSICIÓN Y ORIGEN DE LOS PAHS

3.1 Análisis de la distribución según el número de anillos

Al evaluar la contaminación por PAHs es de importancia poder distinguir las fuentes de origen. La mayoría de los PAHs presentes en sedimentos marinos/estuariales son de origen pirolítico o petrógeno. Los aportes de hidrocarburos de origen pirogénico (producidos durante la combustión incompleta de carbón, maderas o combustibles fósiles) presentan dominancia de compuestos de alto peso molecular (4-6 anillos). En contraste los aportes de origen petrógeno presentan dominancia de compuestos con 2 o 3 anillos (Sander et al., 2002; Dahle et al., 2003).

La Figura 3.4 muestra la distribución por número de anillo en los diferentes sitios de muestreo. En general, la abundancia y composición de anillos mostró una distribución homogénea en todos los sitios, lo cual parecería indicar una fuente común de ingreso de PAHs al estuario. La excepción fue el sitio S3 en donde la abundancia de PAHs de cuatro anillos presentó el registro más alto (50% en promedio). Esto último indicaría una imposición de compuestos de origen pirogénico para ese sitio. Por el contrario, para los restantes puntos de muestreo, los PAHs de tres y cuatro anillos predominaron en conjunto en casi todas las muestras, con un valor porcentual promedio de 36,8 y 30,2 % respectivamente indicando un origen mixto (pirolítico + petrógeno).

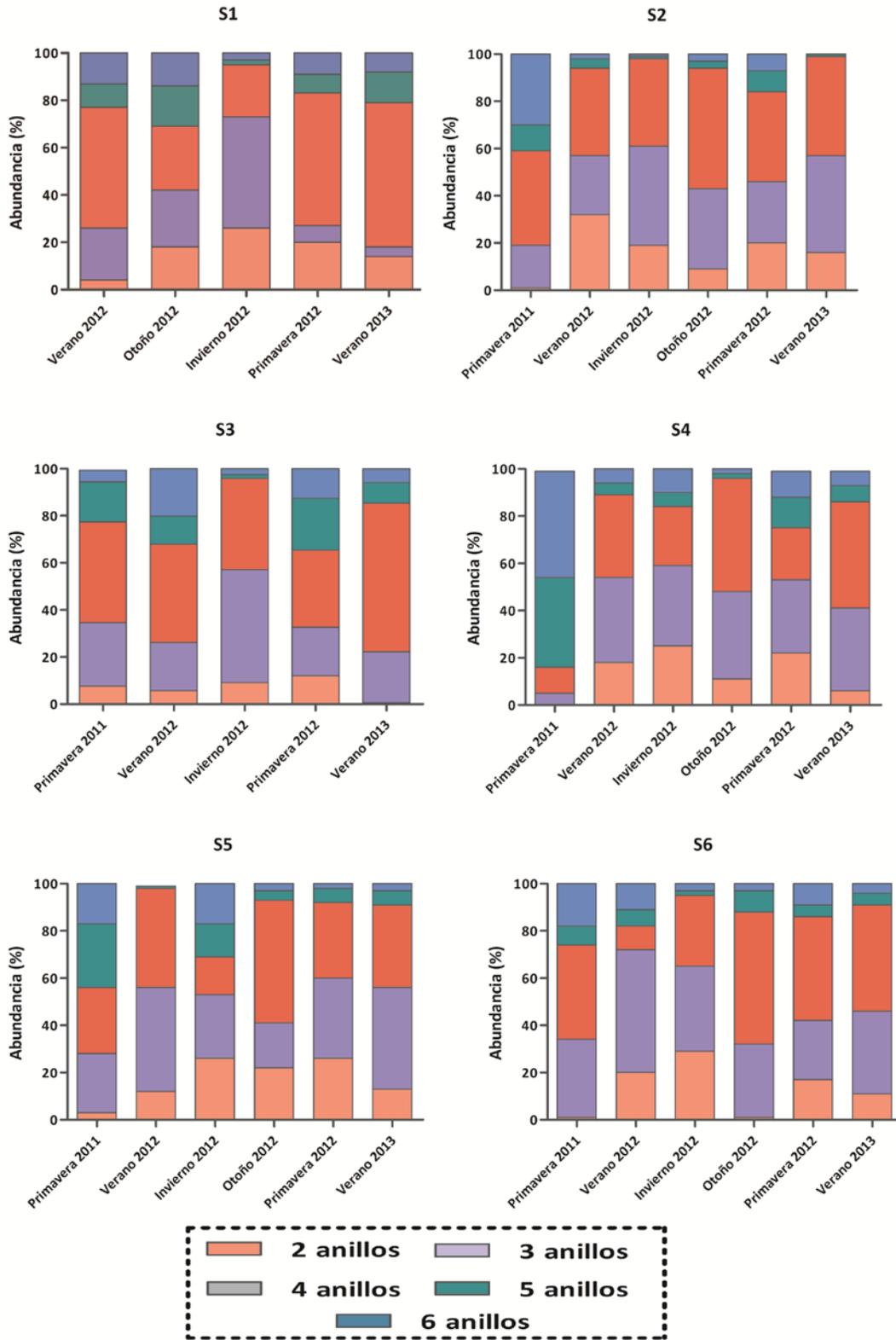


Figura 3.4. Abundancia del número de anillos en los sedimentos según campaña y sitio de muestreo.

Analizando todos los sitios en conjunto a fin de poder evidenciar posibles variaciones estacionales del número de anillos, se observó un aumento de los PAHs de más de 4 anillos durante las dos primaveras y los dos veranos, lo cual indicaría un aumento del aporte pirolítico durante esos meses del año. Por el contrario durante el otoño y el invierno los PAHs más numerosos fueron los de bajo peso molecular (2-3 anillos) (Figura 3.5).

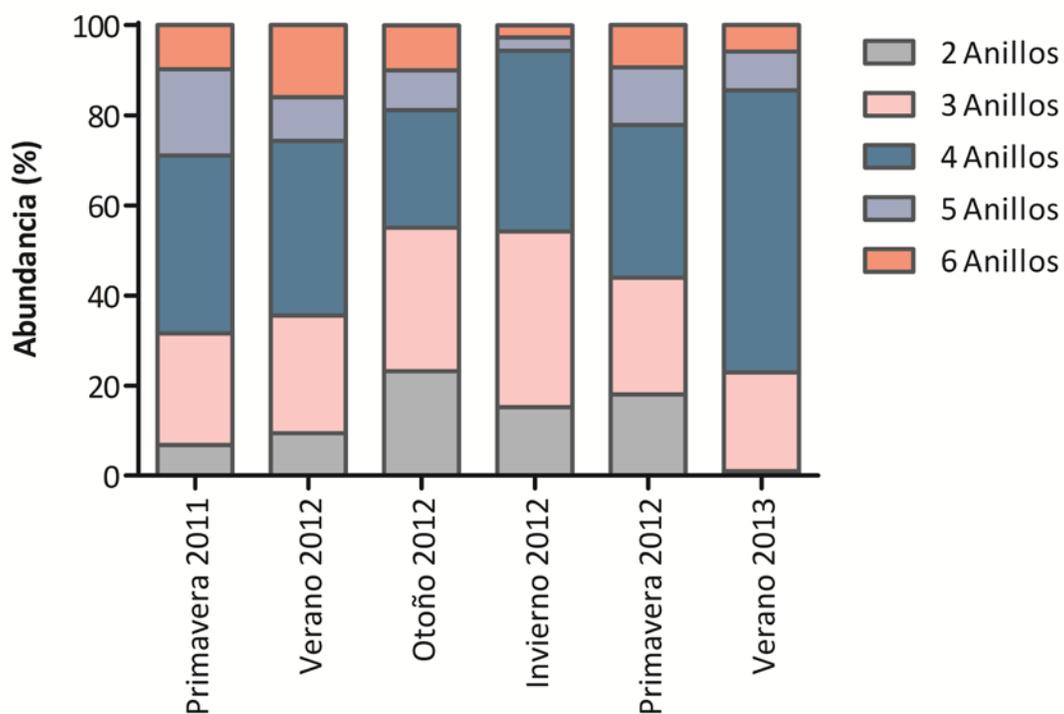


Figura 3.5. Composición % promedio según el número de anillos para cada estación del año.

Evaluando los 17 PAHs de manera individual (Figura 3.6) se observó que en términos de abundancia los compuestos más numerosos fueron el FLU, PY y PHE (que representaron el 16,5%, 16,0% y 15,2% de los PAHs totales, respectivamente).

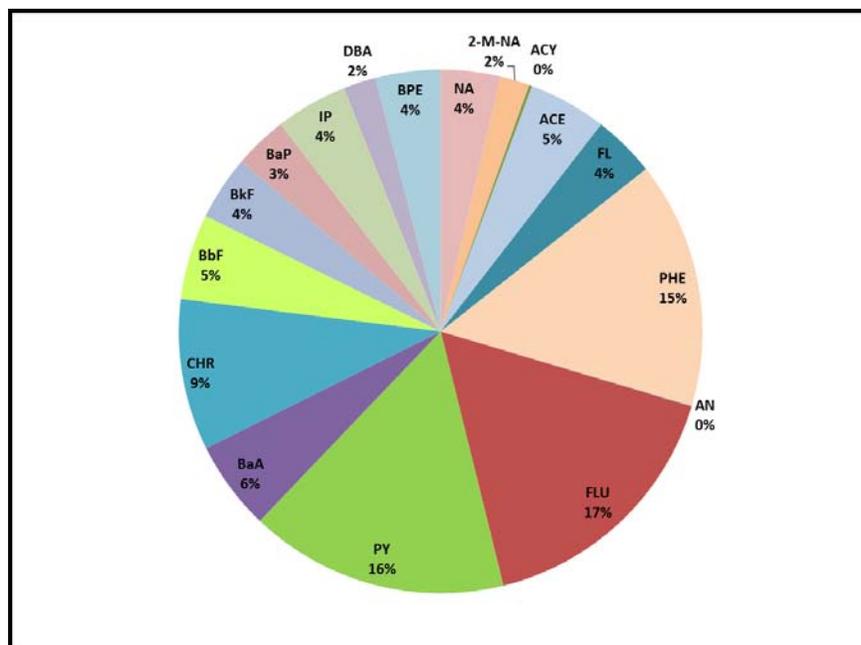


Figura 3.6. Contribución porcentual de cada PAHs al total de PAHs para las 34 muestras de sedimento.

3.2 Análisis de correlación entre congéneres

Los resultados de correlación (coeficiente de correlación de Spearman) entre algunos de los PAHs analizados se muestran en la Tabla 3.3. Tal como puede observarse en esta tabla, los PAHs de mayor peso molecular (más de 4 anillos) se correlacionaron de manera significativa; esto indicaría que estos compuestos provienen de fuentes similares y que dichas fuentes se encuentran cercanas a los

sitios de muestreo (Chung et al., 2007; Jiao et al., 2012; Acquavita et al., 2014). Simultáneamente, la correlación hallada también indicaría que los PAHs sufren procesos ambientales comunes e independientes del sitio de muestreo (bioturbación, meteorización, etc.).

Estos resultados son consistentes con el análisis de distribuciones por grupos de anillos, sugiriendo por un lado una fuente común de ingreso de PAHs al sistema, y por otro que los cambios composicionales en el patrón sedimentario de PAHs registrados en algunos sitios de muestreo pudieron tener origen en fuentes puntuales específicas de cada sitio.

Los PAHs de menor peso molecular como el 2-M-NA y el FL no presentaron correlaciones estadísticamente significativas. Una explicación probable es que estos PAHs de menor peso molecular son más fácilmente degradados/meteorizados, y este probablemente sea uno de los principales factores de variabilidad al evaluar las correlaciones entre los distintos PAHs.

Tabla 3.3. Matriz de correlación entre las concentraciones de los PAHs hallados en los sedimentos.

	NA	PHE	FLU	PYR	BaA	CHR	BbF	BkF	BaP	IP	DBA	BPE	SUM PAHs
NA	1												
PHE	+	1											
FLU	-	++	1										
PYR	-	++	-	1									
BaA	-	++	-		1								
CHR	-	-	-	++		1							
BbF	++	++	-	++	++	++	1						
BkF	-	-	-	-	++	++	+	1					
BaP	++	++	-	-	++	++	++	++	1				
IP	++	++	-	++	++	-	++	++	++	1			
DBA	-	-	-	++	++	-	++	++	++	++	1		
BPE	++	++	-	++	-	++	++	++	++	++	++	1	
SUM PAHs	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	1

-: No hay correlación estadísticamente significativa

+: Hay correlación estadísticamente significativa con un nivel de significación de 0.05

++: Hay correlación estadísticamente significativa con un nivel de significación de 0.01

3.3 Análisis de índices moleculares

Los índices moleculares han sido tradicionalmente utilizados para evaluar e identificar el origen de los PAHs (Budzinski et al., 1997; Yunker et al., 1999, 2002). Estos índices se basan en la diferente estabilidad termodinámica de varios isómeros (Readman et al., 1987). Es así que, por ejemplo, el aporte de las actividades antropogénicas y/o combustión se caracteriza generalmente por un aumento en la proporción de los isómeros menos estables frente a los termodinámicamente más estables (Yunker et al., 2002). Es importante tener en cuenta que para evitar introducir factores de ruido -tales como diferencias en volatilidad, coeficiente de partición agua/TOC, solubilidad en agua, absorción, etc.- las relaciones que se emplean se limitan a PAHs dentro de una masa molecular determinada (Yunker et al., 2002).

En este estudio se utilizó el contraste de pares de índices moleculares propuesto por Yunker et al. (2002). Para ello se analizó el índice FLU/FLU+PY frente al IP/IP+BPE (Figura 3.7). Como referencia, un índice de IP/IP+BPE menor a 0,20 indica un origen petrógeno, entre 0,20 y 0,50 se atribuye a combustión de líquidos fósiles, mientras que valores por encima de 0,50 implican combustión de pasturas, carbón o madera. Similarmente el índice FLU/FLU+PY menor a 0,40 es usualmente atribuido a orígenes petrógenos, entre 0,40 y 0,50 indica combustión de líquidos fósiles, mientras que aquellos valores mayores a 0,50 son atribuidos a combustión de biomasa (madera, carbón o pasturas) (Yunker et al., 2002).

Por un lado, los resultados obtenidos muestran que los sedimentos cercanos a la zona industrial (S3) presentaron un valor promedio de los índices FLU/FLU+PY y IP/IP+BPE de $0,46 \pm 0,1$ ($n=4$) y $0,51 \pm 0,09$ ($n=5$), respectivamente (Figura 3.7). Esto indicaría una mezcla de diferentes procesos de combustión en esa zona. Por otro lado en el resto de los sitios de muestreo se observó un amplio rango de valores para los índices calculados, lo cual indicaría una mezcla de aportes petrógenos y de procesos de combustión mixtos (Figura 3.7).

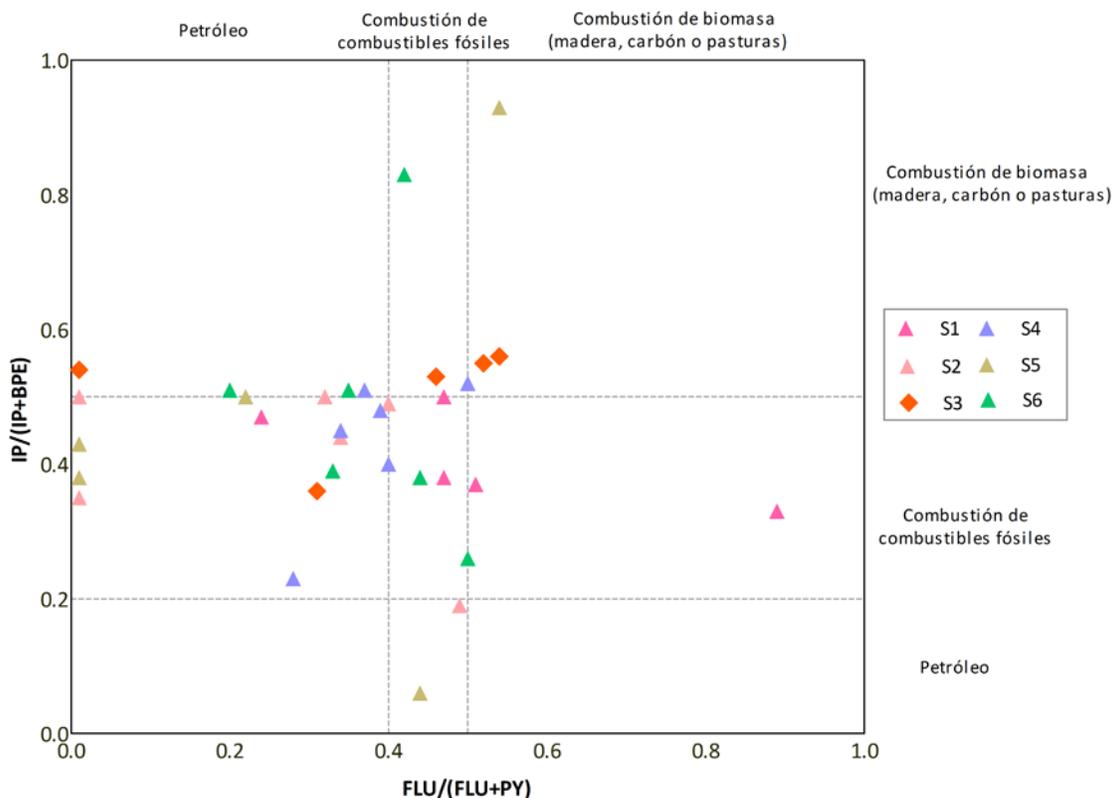


Figura 3.7. Cross plot de los índices ($FLU/FLU+PY$ vs. $IP/IP+BPE$) para los sedimentos muestreados.

Con el fin de evaluar posibles variaciones estacionales de los índices analizados anteriormente, se consideraron sus puntuaciones a lo largo del periodo estudiado. Se observó por un lado que el índice $IP/(IP+BPE)$ mostró puntuaciones pirogénicas producto de la combustión de combustibles fósiles durante el año y medio estudiado, con excepción de las dos primaveras en donde se observaron puntuaciones características de procesos de combustión de biomasa (pasturas, carbón o maderas), (Figura 3.8).

Por el contrario el índice $FLU/(FLU+PY)$ no mostró un patrón definido, sugiriendo aportes mixtos (petrógenicos y pirolíticos) a lo largo de todo el año para todos los sitios muestreados (Figura 3.9).

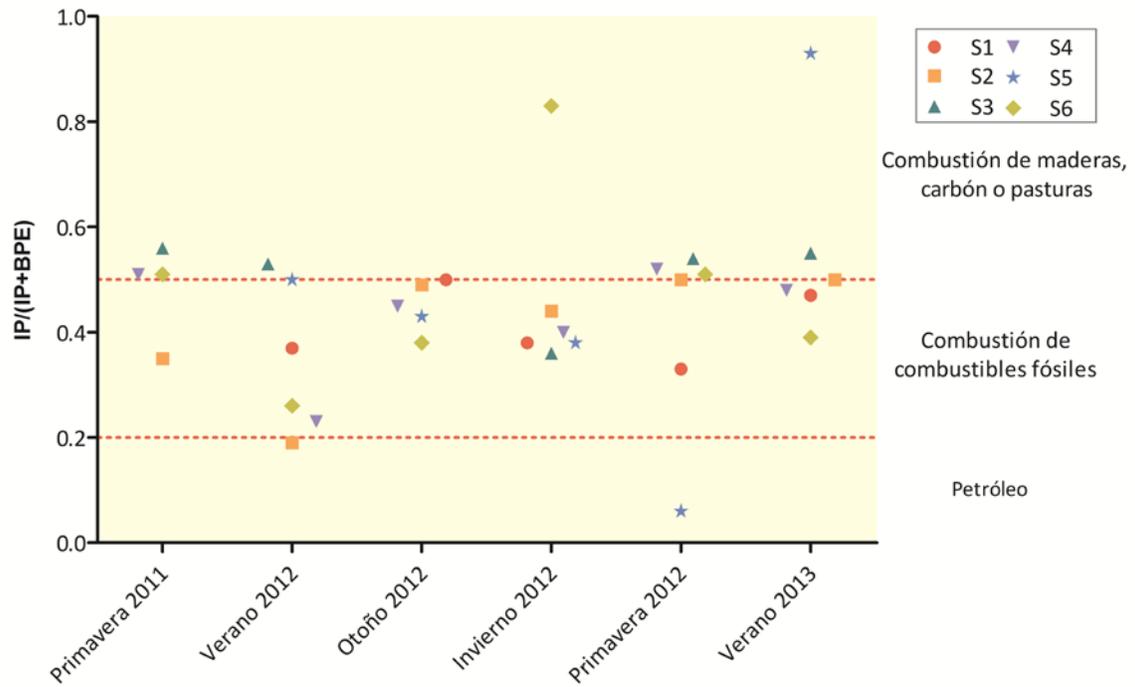


Figura 3.8. Variación estacional del índice $IP/(IP+BPE)$

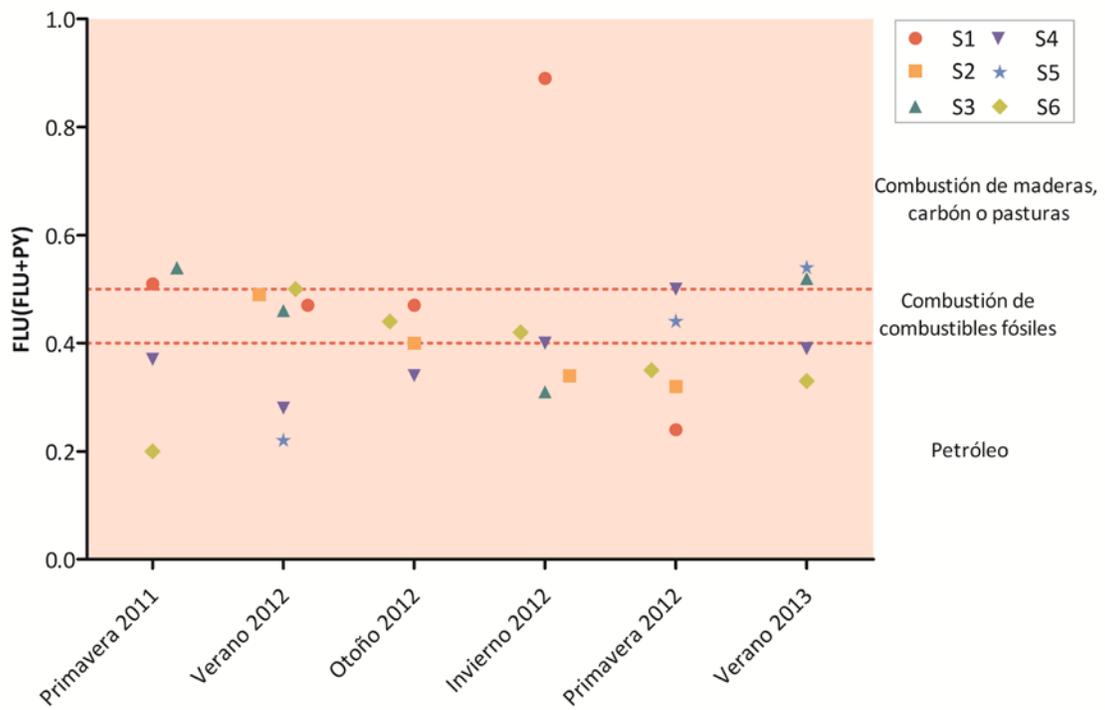


Figura 3.9. Variación estacional del índice $FLU/(FLU+PY)$

Finalmente y para complementar en análisis se utilizó el índice PAHs bajo peso molecular/PAHs alto peso molecular (LMW/HMW), un índice ampliamente utilizado para distinguir entre el origen pirolítico y petrógeno de estos compuestos. Valores mayores a 1 son atribuidos a orígenes petrógenicos mientras que valores menores a 1 implican aportes pirolíticos (Yuam et al., 2001).

La Figura 3.10 muestra los resultados del índice LMW/HMW para todas las muestras obtenidas separadas por sitio de muestreo y estaciones del año. Los resultados globales muestran que el 65% de las muestras presentaban valores menores a 1, lo cual indicaría una leve imposición de procesos pirolíticos por sobre los petrógenicos. Al analizar la variación de este índice a lo largo del periodo muestreado se observa que los valores pirolíticos fueron más marcados en primavera en concordancia con los resultados observados para el índice IP/(IP+BPE).

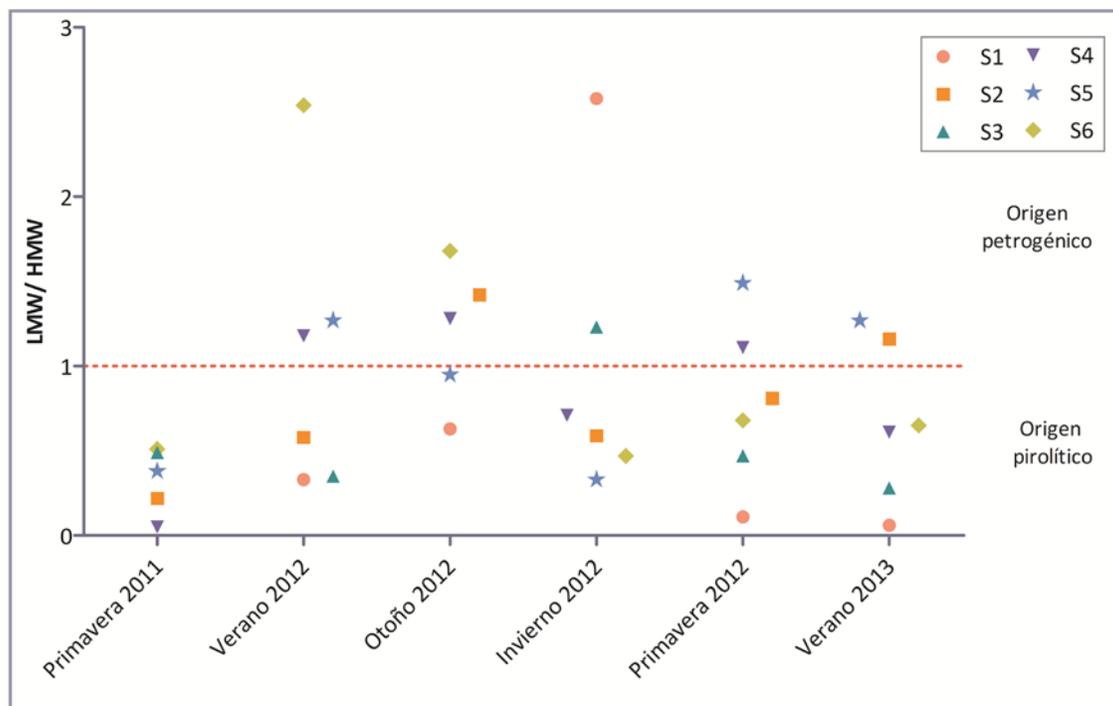


Figura 3.10 Índice LMW/HMW en el tiempo según el sitio de muestreo.

En resumen, fueron identificados diferentes orígenes para los PAHs estudiados, destacándose que mientras que los procesos de combustión parecen ser los más importantes y predominantes en el Estuario, la impronta petrógena también fue encontrada.

En cuanto a la distribución temporal de fuentes, la combustión de combustibles fósiles pareciera ser la fuente que predomina durante la mayor parte del año y puede ser atribuida a la alta actividad antropogénica que se desarrolla en la zona portuaria/industrial. Durante las dos primaveras se observó un aumento de puntuaciones pirolíticas producto de la combustión de biomasa. Una posible explicación podría ser el incremento en la carga externa de los PAHs derivados de aumentos en los procesos de combustión durante los meses fríos provenientes tanto de actividades industriales como domésticas, tendencia que se observa en muchos ambientes costeros (Bouloubassi & Saliot, 1993). De hecho y sustentando esta posible explicación para las dos primaveras se observaron picos en los niveles totales de PAHs para algunos de los sitios muestreados.

3.4 Análisis de componentes principales (ACP)

La alta variabilidad de los niveles de PAHs obtenidos requiere de una evaluación muy cuidadosa a fin de poder realizar interpretaciones claras. El empleo de métodos estadísticos descriptivos como el Análisis de Componentes Principales (ACP) es ampliamente utilizado en el análisis de PAHs en muestras medioambientales (por ej., Savinov et al., 2003; Golobočanin et al., 2004; Colombo et al., 2005; Prieto et al., 2008; Pietzsch et al., 2010; Commendatore et al., 2012; Jiao et al., 2012). Este método se utiliza para reducir la dimensionalidad de un conjunto de variables originales (por ej., los niveles de cada PAH en cada muestra de sedimento) en otro conjunto de nuevas variables no correlacionadas entre sí (componentes principales).

El análisis estadístico fue realizado con el programa STATISTICA 7.0 (StatSoft,

Inc.). Los datos fueron acomodados en una matriz donde cada columna correspondió a la concentración de un PAH y cada fila a una muestra. Antes del análisis estadístico aquellos valores por debajo del LD fueron remplazados por la mitad del LD y luego todos los datos fueron transformados aplicando $(\log_{10} + 1)$. Los compuestos ACE, ACY y AN no fueron tenidos en cuenta para el PCA debido a que estaban ausentes en la mayoría de las muestras. La rotación de los ejes se varió para obtener la máxima cantidad de cargas positivas (*loadings*) para los factores (rotación: *varimax*). El número de factores extraídos fue realizado según la regla de Kaiser, según la cual se retienen sólo aquellos factores con autovalores (*eigenvalues*) mayores o iguales a 1.

El análisis de PCA identificó dos componentes principales (PC1 y PC2), los cuales explicaron el 69% y el 8% de la varianza total respectivamente. Los componentes (*loading scores*) mayores a 0,60 fueron considerados significativos. El factor 1 presentó fuertes correlaciones con PY, BaA, CHR, BbF, BkF, BaP, IP, DBA y BPE (Figura 3.11). Todos estos PAHs presentan 4 o más anillos en su estructura y están altamente correlacionados con el origen pirolítico. Por un lado el PY, el BaA y el CHR son marcadores de la quema de carbón (Larsen & Baker, 2003). Si bien el carbón no es un combustible de uso prioritario en la zona, los orígenes probables de estos PAHs puede ser los procesos de destilación y *cracking* de gas natural a macro escala que se desarrollan en la zona industrial (Arias, 2008). En Puerto Galván se produce la recuperación y fraccionamiento de los componentes pesados del gas natural. Anualmente se recuperan a partir del gas natural aproximadamente 1.390.000 toneladas (entre propano, etano, butano y gasolina), de los cuales el etano es utilizado localmente para la producción de plásticos de diferente densidad (<http://puertobahia blanca.com/mega.html>). Por otro lado BbF, BkF, BaP, IP, DBA y BPE son marcadores típicos de emisiones vehiculares (Simcik et al., 1999; Larsen & Baker, 2003; Zhang et al., 2008). Tanto la maquinaria industrial como los vehículos a motor son grandes consumidores de destilados de petróleo. Asimismo, grandes cantidades de hidrocarburos son venteados y

quemados regularmente y/o en situaciones de inestabilidades del proceso industrial, en las antorchas del complejo industrial adyacente (Arias, 2008). Por lo que el componente PC1 podría interpretarse como un factor de origen pirolítico mixto (producto de emisiones industriales más la combustión de hidrocarburos derivados del petróleo).

El PC2 presentó fuertes correlaciones con 2-M-NA, PHE y FLU. Mientras que el 2-M-NA puede ser atribuido a un origen petrógeno, el PHE y el FLU son marcadores usuales de la combustión de maderas (Larsen & Baker, 2003) y carbón (Simcik et al., 1999; Zhang et al., 2008). Como consecuencia el PC2 puede ser definido como un componente de aportes mixtos (petrógeno+ combustión de biomasa).

La Figura 3.12 ilustra el *biplot* de los dos componentes (PC1 vs PC2) que permitió la caracterización de las estaciones de muestreo de acuerdo con el primer y el segundo componente. Como se muestra en dicha figura, el PCA logró agrupar a las muestras en dos grupos principales. El primer grupo estaba compuesto por muestras situadas en la zona de máxima actividad industrial cercanas al punto de descarga de efluentes industriales (S3) y en donde se encontraron los valores más altos de PAHs totales. Estas muestras fueron bien diferenciadas por presentar puntuaciones significativas en el primer componente. El otro grupo contenía las muestras restantes que presentaban puntuaciones en ambos componentes pero en su mayoría con el PC2, lo que indica entradas concomitantes de PAHs pirolíticos producto de la combustión tanto de combustibles fósiles como de biomasa y petrogénicos.

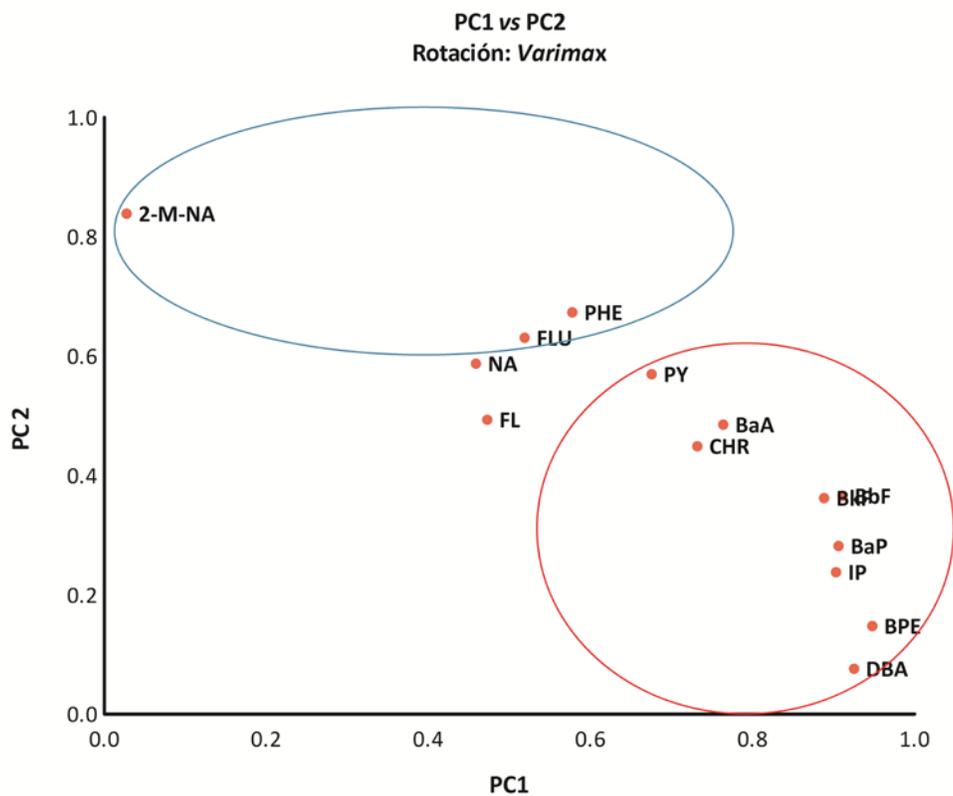


Figura 3.11. Correlación de los PAHs individuales con los dos componentes principales

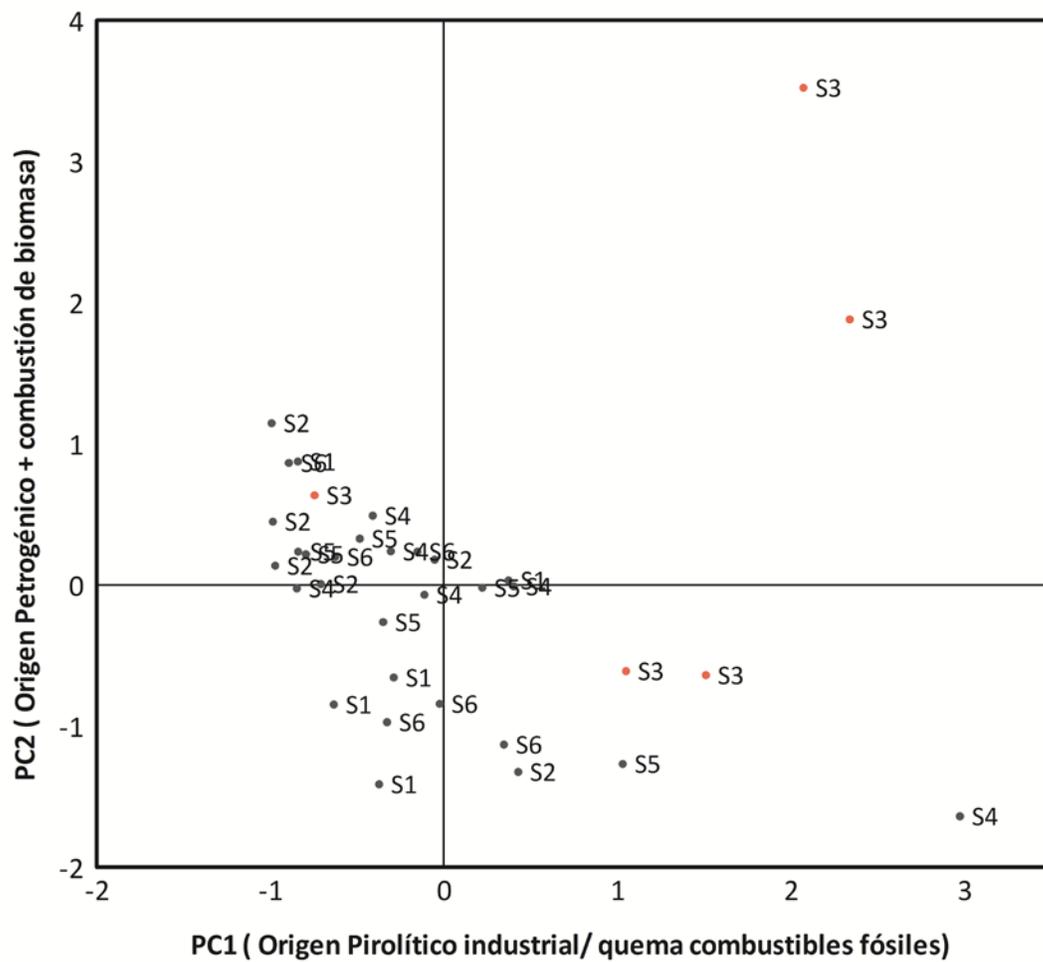


Figura 3.12. Biplot (PC1 vs PC2) para las muestras de sedimentos obtenidas

4 COMPARACIÓN DE LOS NIVELES DE PAHS CON OTROS SITIOS COSTEROS

Numerosos trabajos que estudian los niveles de PAHs en matrices medioambientales (sedimentos, agua y biota) se han realizado en la última década en todo el mundo, demostrando la importancia que tiene para la comunidad científica el estudio de estos compuestos en particular en sistemas costeros antropizados. Si bien las comparaciones directas no son fáciles debido a las diferencias en el número y tipo de PAHs analizados, profundidad y características geológicas de cada sitio muestreado, resulta muy útil poder comparar los niveles encontrados en esta Tesis con aquellos reportados en otras regiones del mundo, a fin de ubicar al estuario en un contexto global.

La tabla 3.4 presenta el rango de concentraciones (para la sumatoria de los PAHs analizados) hallados por diversos autores en sedimentos superficiales. Las concentraciones encontradas en el Estuario de Bahía Blanca estuvieron en el rango de aquellas halladas en otros puertos importantes alrededor del mundo como son el de Kaohsiung (Taiwán), Imam Khomeini (Irán), Barcelona (España) y Montevideo (Uruguay).

Tabla 3.4. Comparación de los niveles de PAHs en sedimentos con otros sitios costeros del mundo.

Lugar	Rango (ng/ g p.s.)	Nº de PAHs analizados	Referencia
América			
Estuario de Bahía Blanca, Argentina	20-30054	17	Este trabajo
Estuario de Bahía Blanca, Argentina	15-10260	17	Arias et al. 2010a
Bahía de Ushuaia, Patagonia, Argentina	ND-360	16	Commendatore et al. 2012
Estuario del Rio de la Plata, Argentina	3-2120		Colombo et al. 2006
Estuario de Patos Lagoon, Brasil	38-11780	23	Medeiros et al. 2005
Puerto de Montevideo, Uruguay	1560-90440	20	Muniz et al. 2004
Playa de Cienfuegos, Cuba	450-10500	41	Tolosa et al. 2009
Jobos Bay, Puerto Rico	40-1912	16	Aldarondo-Torres et al. 2010
Veracruz, Golfo de México	200-12400	16	Ponce-Vélez et al. 2006
Europa			
Estuario Mersey , U.K	626-3766	15	Vane et al. 2007
Puerto de Barcelona, España	300-10320	16	Martínez-Lladó 2007
Lagos Strangford y Larne, Irlanda	83-22960	13	Guinan et al. 2001
Asia			
Puerto de Kaohsiung, Taiwán	34-16700	17	Chen et al. 2013
Zhanjiang Bay, China	42-934	16	Huang et al. 2012
Estuario Yangtze, China	85-620	16	Hui et al. 2009
Daya Bay, China	42-158	16	Yan et al. 2009
Puerto Imam Khomeini, Irán	2886-5482	16	Abdollahi et al. 2013
Estuario del Río Chao Phraya, Tailandia	30-724	17	Boonyatumanond et al. 2006

5 ANÁLISIS DE LA CALIDAD DE LOS SEDIMENTOS MEDIANTE LA COMPARACIÓN CON NIVELES GUÍAS

En los últimos años los datos químicos de los contaminantes en conjunto con sus conocidos efectos en los organismos acuáticos han sido utilizados para desarrollar niveles o umbrales guías de calidad de los sedimentos (SQGs). Estos SQGs han demostrado ser herramientas útiles para evaluar la calidad de los sedimentos tanto marino como estuariales (Long et al., 2006) debido a que pueden ser bien extrapolados a otros sitios contaminados, motivo por el cual son ampliamente utilizados para la protección y gestión de los ecosistemas marinos.

Los valores guías de referencia llamados “Rango de efectos bajos” (ERL, del inglés effects range-low) y “Rango de efectos medios” (ERM, del inglés effects range-median) (Long et al., 1995) han sido ampliamente utilizados (Quiao et al., 2006; Chen & Chen, 2011; Abdollahi et al., 2013; He et al., 2014; Zhang et al., 2014). Estos fueron desarrollados por la Administración Nacional Oceánica y Atmosférica de los Estados Unidos (*US National Oceanic and Atmospheric Administration*, US-NOAA) como guías no regulatorias (orientativas), y corresponden al 10^{mo} y 50^{vo} percentil respectivamente de un grupo de sedimentos asociados a efectos adversos sobre organismos (He et al., 2014). Estos valores permiten delinear tres rangos de concentración para un compuesto químico en particular: aquellos en los que los efectos biológicos son raros (por debajo del ERL), ocasionales (entre el ERL y el ERM) y frecuentes (por encima del ERM).

Es importante resaltar que al considerar los SQGs se está evaluando cada compuesto o a lo sumo un grupo de compuestos de manera individual. Por lo tanto, este enfoque no tiene en cuenta el potencial sinergismo entre los diferentes contaminantes que puedan coexistir en los sedimentos (por ej., metales, compuestos organoestánicos, organoclorados, bifenilos policlorados, etc.), pudiendo eventualmente subestimarse los efectos nocivos de estos contaminantes en sedimentos.

Los resultados obtenidos mostraron que las concentraciones de PAHs totales de 32 muestras obtenidas en el presente trabajo no excedieron el ERL, mientras que 2 muestras (correspondientes ambas al sitio S3) presentaron valores entre el ERL y el ERM. Por otro lado, estudiando a cada PAH de manera individual se observó que el 35% de las muestras excedieron al menos una vez algún valor de ERL. El FL fue el compuesto que excedió más veces el valor de ERL. De hecho en todos los sitios de muestreo se superó al menos una vez el ERL para dicho compuesto. Tomando esto en cuenta, en base a estos resultados pueden predecirse ocasionales efectos biológicos adversos sobre la biota adyacente atribuibles a algunos PAHs individuales.

Finalmente, en 11 ocasiones se excedió el nivel de ERM para los PAHs individuales y en todos los casos correspondió a sedimentos de los sitios S3 y S4. Los compuestos que excedieron los valores de ERM fueron 2-M-NA, ACE, FL, PHE, FLU, PY, BaA, CHR y DBA. A partir de esto, se concluye que estos compuestos pueden producir efectos nocivos frecuentes sobre la biota bentónica para los sitios mencionados (Tabla 3.5).

Tabla 3.5. Ocurrencia de exceso de los valores de ERL y ERM (Long et al., 1995) para los sedimentos del Estuario de Bahía Blanca.

Compuesto	ERL (ng/g, p.s.)	ERM (ng/g, p.s.)	Nº de muestras que excedieron los umbrales		
			<ERL	>ERL <ERM	>ERM
NA	160	2100	33	1	0
2-M-NA	70	670	33	0	1
ACY	44	640	33	1	0
ACE	16	500	31	2	1
FL	19	540	24	9	1
PHE	240	1500	31	1	2
AN	853	1110	34	0	0
FLU	600	5100	32	1	1
PY	665	2600	32	0	2
BaA	261	1600	32	1	1
CHR	384	2800	32	1	1
BaP	430	1600	32	2	0
DBA	63,4	260	31	2	1
Σ PAHs	4022	44792	32	2	0

6 ANÁLISIS DEL POTENCIAL CARCINOGENICO DE LOS PAHS

Según la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC) y la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (US-EPA), los PAHs con potencial carcinogénico son: NA, BaA, CHR, BbF, BkF, BaP, IP y DBA. Si bien el NA es clasificado como posible carcinogénico humano (grupo 2B y C para la IARC y para la EPA respectivamente) (IARC, 2002; IRIS, 2008), en la mayoría de los trabajos medioambientales de PAHs el NA es excluido de la "lista clásica" de los PAHs carcinogénicos.

Las concentraciones totales de estos 8 PAHs carcinogénicos en los sedimentos del Estuario de Bahía Blanca variaron desde 5,2 hasta 12.281,3 ng/g, p.s., y representaron entre un 15 y un 68% del total de PAHs. Estos resultados estarían indicando que las emisiones que se liberan sobre el EBB presentan un alto potencial carcinogénico.

Dentro de los PAHs con potencial carcinogénico el BaP es el más estudiado, tóxico y del cual se cuenta con suficiente evidencia para clasificarlo como carcinogénico humano (IARC, 2010). Debido a que es el más estudiado, el BaP es utilizado como prototipo toxicológico, evaluando el potencial tóxico de los otros PAHs en base a factores de equivalencia basados en BaP (TEFs).

Siguiendo este criterio, se calcularon los equivalentes tóxicos del BaP (TEQ BaP) para cada sitio según la siguiente fórmula:

$$\text{TEQ BaP} = c_i \times \text{TEF},$$

donde, c_i es la concentración de cada PAH individual (ng/g, p.s.) y TEF es el factor de equivalencia tóxica propuesto por Nisbet & Lagoy (1992), tabla 3.6.

Tabla 3.6. Factores de toxicidad equivalente al BaP empleados.

PAHs	TEF
NA	0,001
ACY	0,001
ACE	0,001
FL	0,001
PHE	0,001
AN	0,01
FLU	0,001
PY	0,001
BaA	0,1
CHR	0,01
BbF	0,1
BkF	0,1
BaP	1
IP	0,1
DBA	1
BPE	0,01

La Figura 3.13 muestra los valores de PAHs hallados en los sedimentos expresados como TEQ BaP. Las concentraciones totales de TEQ-BaP (sumatoria de los 17 TEQ-BaP) calculadas para las 34 muestras de sedimentos analizadas variaron desde 0,222 hasta 1970,2 ng TEQ-BaP/g sedimento (p.s.).

A fin de poder comparar los valores hallados en el Estuario de Bahía Blanca con otros sitios costeros, se utilizaron únicamente los TEQ BaP obtenidos para los 7 PAHs carcinogénicos (no se tuvo en cuenta al NA). A modo ilustrativo, los niveles encontrados en este trabajo son similares a los hallados en el Puerto de Kaohsiung, Taiwán (Chen et al., 2013), menores a los encontrados en el Puerto de Nápoles, Italia (Sprovieri et al., 2007), pero mayores que aquellos encontrados en Meiliang Bay, China (Quiao et al., 2006) (tabla 3.7). Comparando estos valores con los reportados previamente para la zona de estudio (Arias et al., 2010b) se observó un incremento en los niveles de carga de TEQ-BaP para el estuario de Bahía Blanca. Finalmente, y en concordancia con los trabajos citados en la tabla 3.7, los máximos valores de TEQ-BaP en este estudio fueron encontrados en los

sitios cercanos a la zona industrial (S3 y S4). Esto podría sugerir que las actividades industriales podrían desempeñar un papel importante en la liberación de PAHs con potencial cancerígeno al medio.

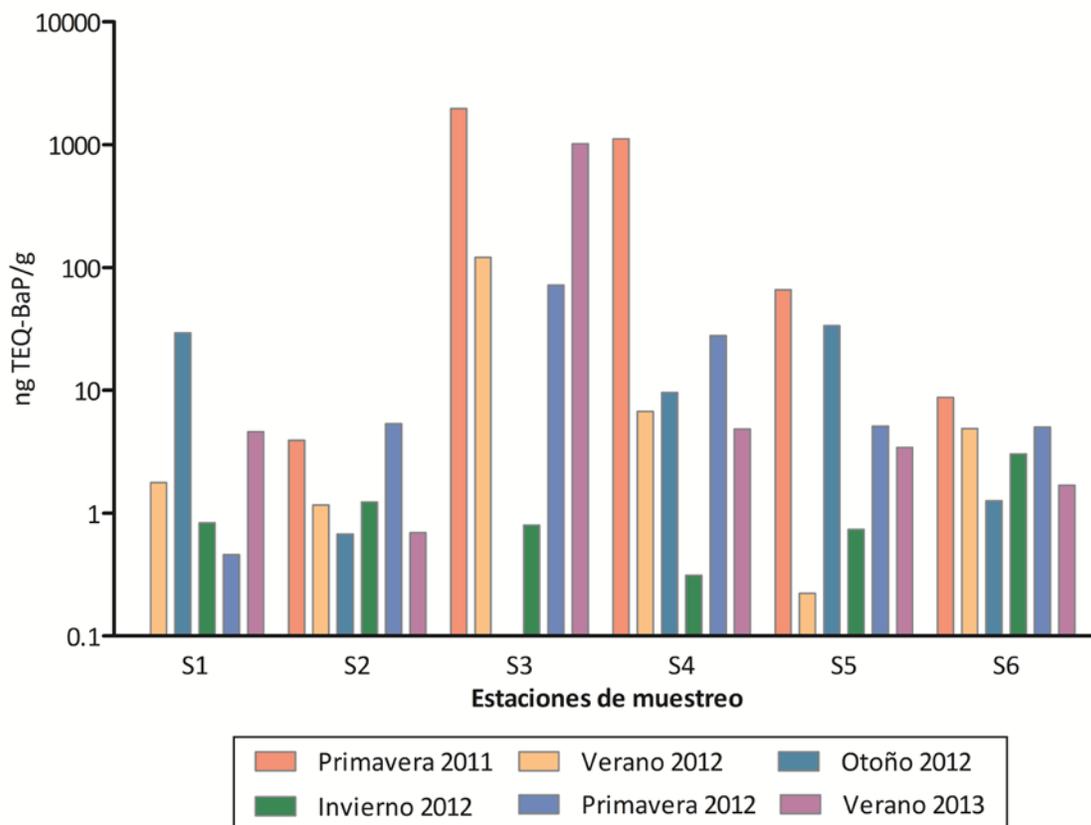


Figura 3.13. Valores de PAHs totales expresados en equivalentes de BaP para los sedimentos del Estuario de Bahía Blanca.

Tabla 3.7. Comparación de los niveles de TEQ-BaP con otros reportados en la literatura

Lugar	TEQ BaP (ng TEQ/g p.s)	Referencias
Puerto de Kaohsiung, Taiwán	4-1970	Chen et al. 2013
Puerto de Napóles, Italia	2-4723	Sprovieri et al. 2007
Bahía Meiliang, Lago Tai, China	94-856	Qiao et al. 2006
Mar de Barents, Russia	11-300	Savinov et al. 2003
Estuario de Bahía Blanca, Argentina	0,01-1632	Arias et al. 2010b
Estuario de Bahía Blanca, Argentina	0,1-1944	Este estudio

CAPÍTULO IV: HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN MEJILLINES

1 CARACTERIZACIÓN BIOLÓGICA

1.1 Índice de condición

El índice de condición (IC) es un parámetro fisiológico que permite caracterizar el estado general de un organismo (crecimiento, reproducción, secreción, etc.) bajo determinadas condiciones ambientales. Este índice presenta fluctuaciones naturales como resultado de la disponibilidad de alimentos, del desove, reproducción, grado de estrés, etc. El aumento del IC representa un aumento de los constituyentes orgánicos del individuo asociado al crecimiento. Por el contrario una disminución del IC refleja periodos de estrés que implica utilización de las reservas del organismo. Como resultado, el IC ha sido propuesto como un biomarcador no específico para detectar la presencia de contaminantes en los bivalvos; sin embargo, en general sólo se ha logrado obtener correlaciones positivas en condiciones de laboratorio y con niveles de contaminantes elevados (Beninger & Lucas, 1984; Boscolo et al., 2007).

En este trabajo se determinó el IC en los especímenes bajo estudio, de acuerdo a la definición de Couillard et al. (1995):

$$IC = (\text{peso seco del tejido blando total} / \text{peso seco de las valvas}) * 100$$

Los resultados mostraron que el IC varió para el conjunto de los mejillines analizados entre 4,67 y 19,9 (Figura 4.1). No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes sitios estudiados, lo cual indicaría que los organismos presentaban condiciones fisiológicas similares independientemente del sitio estudiado. Evaluando la variación estacional del IC se

observó que los máximos valores para todos los sitios fueron obtenidos durante las dos primaveras, mientras que los valores más bajos fueron obtenidos en otoño. Ambas primaveras presentaron diferencias altamente significativas con otoño, verano e invierno (ANOVA $p < 0.0001$).

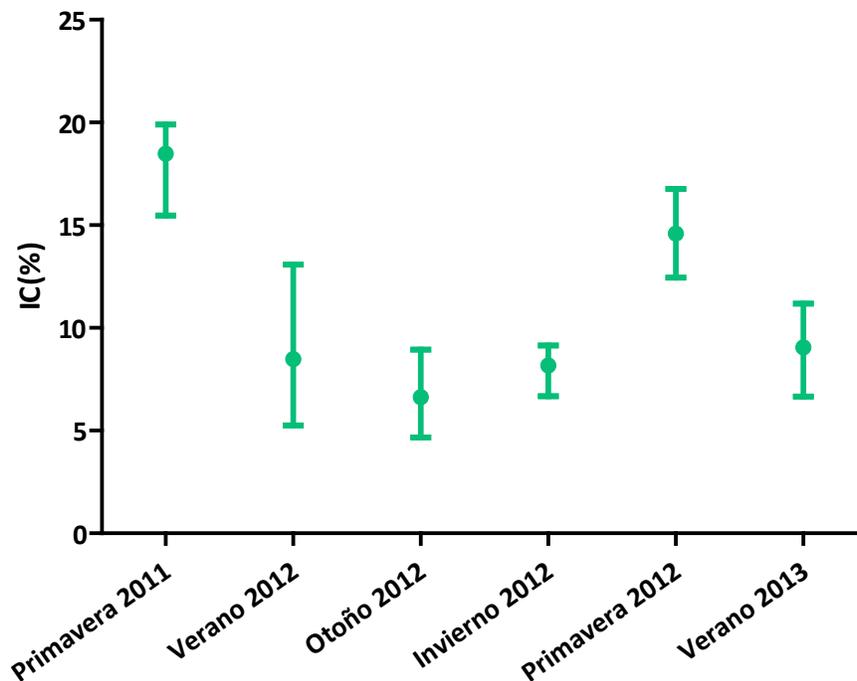


Figura 4.1. Variación estacional del IC expresados como promedio y rango de todos los sitios estudiados.

No se han encontrado estudios científicos publicados sobre la biología, ciclo de vida, etc. del mejillín *Brachidontes rodriguezii* que habita el estuario de Bahía Blanca. Sin embargo, existen datos aislados referentes a su ciclo reproductivo; se ha podido averiguar que su reproducción se mantiene a lo largo del año, observándose en general una disminución en su estado reproductivo durante los meses más fríos (Eder Dos Santos, Comunicación personal). Para esta misma especie en la zona de Mar del Plata se ha observado que la presencia de reclutas (semillas) es constante durante todo el año (Nugent, 1989; Vallarino, 2002). Este último autor determinó dos picos reproductivos, uno en primavera y otro de menor

magnitud en el otoño, observando además que el crecimiento y la estructura de tallas evidenciaban una marcada influencia de los factores ambientales que resultaban condicionantes en cuanto a su desarrollo celular y por lo tanto reproductivo.

Por otro lado estudios realizados en mejillones como *Perna perna* y *Perna viridis* (Arrieche et al., 2002; Acosta et al., 2006) coinciden que los niveles más altos del IC pueden ser relacionados con incrementos de los tejidos reproductivos y con el aumento de los valores de clorofila-*a*. Arrieche et al., (2002) concluye también que un alto IC está asociado con la biomasa fitoplanctónica ya que esta influye sobre el ciclo reproductivo de los mejillones. Si bien durante el presente trabajo no se midieron los valores de clorofila-*a*, el EEB se caracteriza por una floración fitoplanctónica durante el invierno-primavera (Gayoso 1999; Popovich & Marcovecchio, 2008; Guinder et al., 2010, 2013). Considerando la disponibilidad de alimento como un factor clave que regula el IC, los resultados muestran que este parámetro comienza a aumentar en invierno (en concordancia con la aparición del “bloom fitoplanctónico”) llegando a los niveles máximos durante la primavera.

En síntesis, El IC de los mejillones del EEB presentó una alta variabilidad estacional, lo cual estaría sugiriendo que los cambios fisiológicos observados a lo largo del año podrían deberse tanto a factores ambientales como endógenos y por lo tanto desalienta su potencial uso como bioindicador de alerta temprana de procesos de contaminación.

1.2 Lípidos totales

En general, el contenido de lípidos en los mejillones varía estacionalmente dependiendo de factores tanto endógenos (etapa reproductiva, reservas energéticas almacenadas) como exógenos (alimento disponible, temperatura del agua, etc.) (Gabbott, 1983; Bayne, 2004; Ruiz et al., 2011; Yoshimine et al., 2012).

En este trabajo, el contenido de lípidos (g lípidos/g de tejido seco) se registró en un rango de 6,9 a 12,81 % para todas las muestras analizadas. Por motivos operacionales no se pudieron determinar los lípidos de la primera campaña (primavera 2011).

Al igual que para el índice de condición, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de lípidos de los distintos sitios muestreados (ANOVA, $p=0,084$). A fin de estudiar las posibles variaciones temporales de este parámetro a lo largo del año, se analizaron todos los sitios de manera conjunta. Se observó que el contenido de lípidos varió estacionalmente, encontrándose diferencias estadísticamente significativas (ANOVA, $p=0,064$) únicamente entre la primavera 2012 y el verano 2013, que es cuando se evidenciaron -en promedio- los máximos y los mínimos valores de lípidos respectivamente (Figura 4.2).

En los bivalvos los niveles máximos de lípidos suelen observarse durante la etapa reproductiva, pudiendo disminuir hasta un 50 % luego de la etapa de desove (Sprung 1993; Bruner et al., 1994). Teniendo esto en cuenta, los máximos valores de lípidos hallados en la primavera podrían ser atribuidos al estado reproductivo, ya que si bien este proceso ocurre durante casi todo el año, en primavera podría darse un pico en su estado. Esta hipótesis es sustentada por el índice de condición, el cual presentó concomitantemente sus máximos valores en primavera.

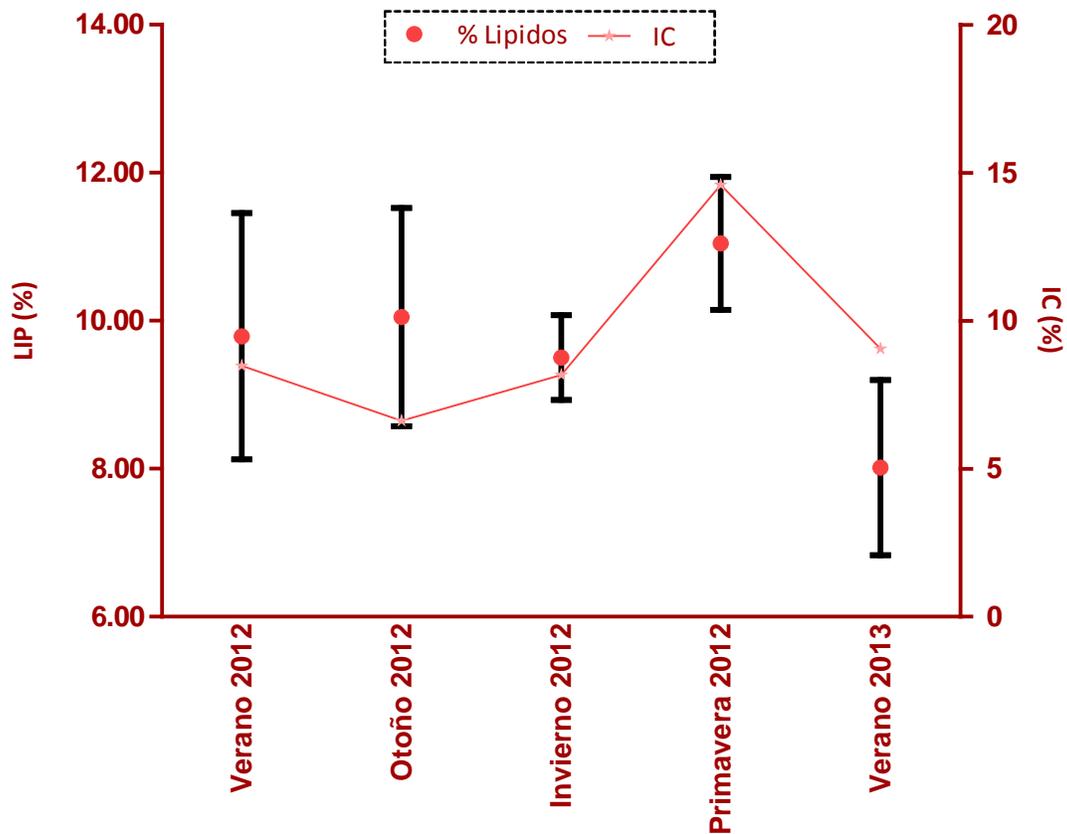


Figura 4.2. Variación estacional del % de lípidos y del IC para todos los mejillines (*Brachidontes rodriguezii*) obtenidos en el EEB. Los resultados de lípidos se expresan como el promedio \pm desvío estándar de todos los sitios muestreados. El IC se expresa como el promedio para cada estación del año.

1.3 Contenido de humedad

El contenido de humedad se mantuvo en general estable en un rango de 73,11 a 85,95%. Las variaciones entre sitios para cada campaña no superaron el 5%. Los registros más bajos se encontraron durante las dos primaveras, situación que coincidió con el aumento de los lípidos y del IC. Luego de la primavera el contenido de agua en los organismos aumentó hasta llegar a los máximos valores en otoño. Durante el invierno el contenido de agua disminuyó, llegando a los valores más bajos durante la primavera (Figura 4.3), tal y como se mencionó anteriormente.

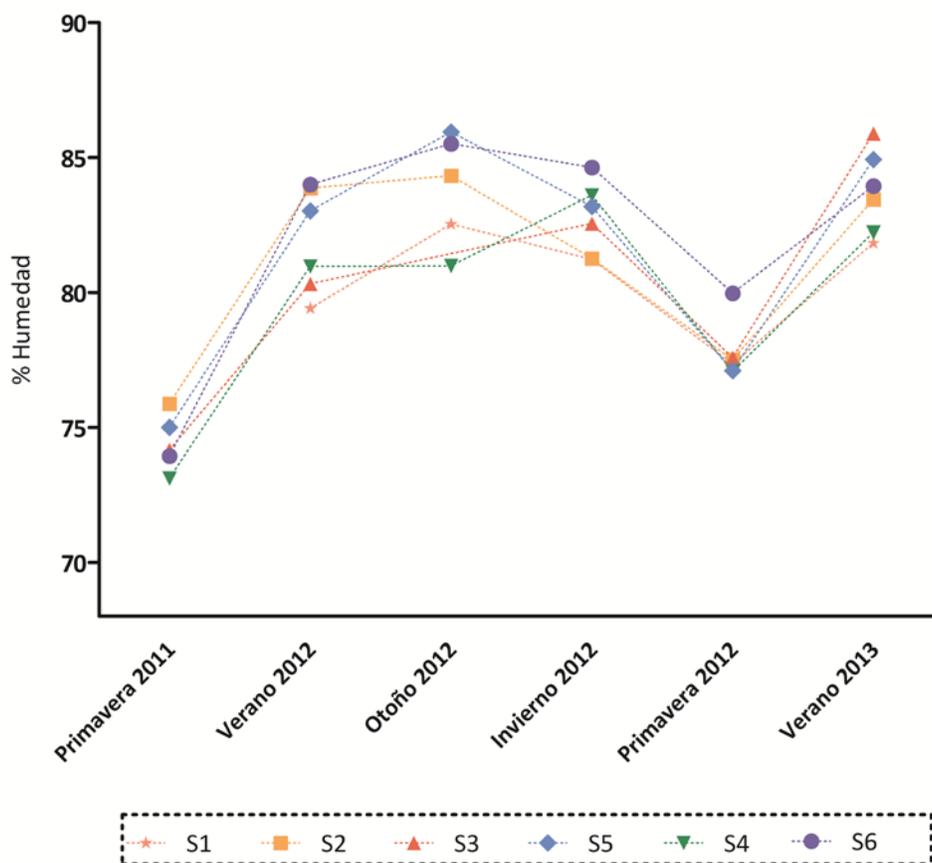


Figura 4.3. Valores promedio (n: 40) del contenido de humedad (%) para cada sitio y fecha de muestreo.

2 NIVELES DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN *Brachidontes rodriguezii*

Los mejillones son de uso común como especies centinelas para la vigilancia en las zonas costeras de todo el mundo (Goldberg, 1975). Sus características particulares los hacen útiles como bioindicadores para el monitoreo de la presencia de contaminantes en el medio que habitan: tienen amplia distribución geográfica, son fáciles de recoger, son organismos filtradores intermareales, son capaces de

acumular y tolerar altas concentraciones de muchos contaminantes orgánicos e inorgánicos en sus tejidos (Livingstone, 1991), y poseen una baja velocidad de degradación enzimática lo cual los hace capaces de mantener niveles relativamente más altos de moléculas orgánicas en comparación con otros organismos (Meador et al., 1995).

Los compuestos hidrofóbicos como los PAHs tienden a adsorberse rápidamente a las partículas. La solubilidad en agua de los PAHs decrece a medida que aumentan el coeficiente de partición octanol-agua (K_{ow}) y el peso molecular de los PAHs. Es así que los PAHs más biodisponibles para los mejillones son los de bajo peso molecular ya que tienden a estar disueltos en agua, mientras que los de alto peso molecular están preferentemente asociados a la materia orgánica (disuelta o particulada), presente en la columna de agua y sedimentos (Baumard et al., 1999a). En consecuencia los organismos suelen estar más enriquecidos por PAHs de bajo peso molecular en relación con los sedimentos (Porte & Albaigés, 1999; Baumard et al. 1998a, 1999a).

Los mejillines (*Brachidontes rodriguezii*) obtenidos durante el presente trabajo presentaron un rango variable de PAHs totales (suma de los 17 PAHs analizados), desde valores no detectables hasta 482,4 ng/g, p.s. con una media global de 148,9 ng/g, p.s (Figura 4.4). Los valores obtenidos mostraron una marcada variabilidad, sin evidenciar un claro patrón de distribución a nivel estacional.

Si bien estadísticamente no lograron encontrarse diferencias significativas entre los diferentes sitios estudiados, lo cual puede ser explicado por la alta variabilidad de los datos obtenidos, los mejillines obtenidos en Puerto Galván (S3) presentaron los máximos niveles de PAHs. Este sitio ubicado en la zona de mayor actividad portuaria industrial presentó un valor de PAHs totales promedio de 237,06 ng/g, p.s. Los valores más bajos fueron encontrados en el sitio con menor impacto antrópico, Villa del Mar (S1) con un valor promedio de 57,04 ng/g, p.s.

Al igual que para lo observado para los sedimentos se encontró que los niveles de PAHs totales disminuyeron a medida que aumentaba la distancia a la zona

industrial, aunque el rango de valores de PAHs no fue tan amplio como el observado en los sedimentos.

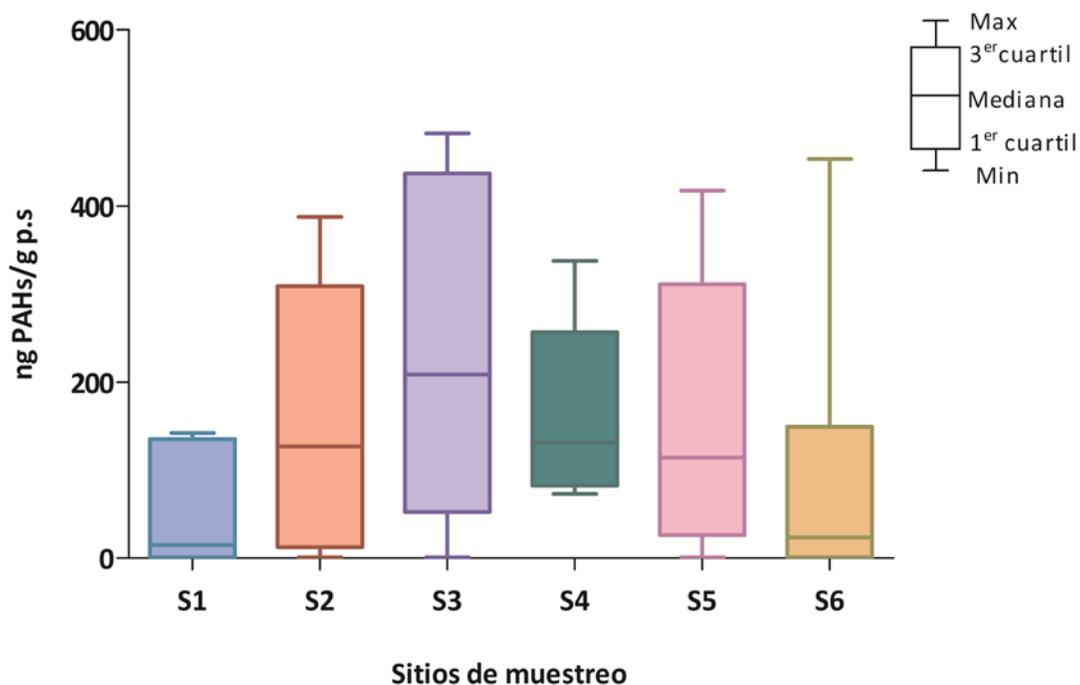


Figura 4.4. Gráfico box & whisker para los niveles de PAHs en los mejillines, para cada sitio de muestreo.

Siguiendo la clasificación propuesta por Baumard et al., (1998a) los niveles de contaminación por PAHs en bivalvos pueden definirse como “leves” (0-100 ng/g, p.s.), “moderados” (>100-1000 ng/g, p.s.), “altos” (>1000-5000 ng/g, p.s.) y “muy altos” (>5000 ng/g, p.s.). Según Oros & Ross (2005) la media global es la mejor indicadora para evaluar la contaminación por PAHs en bivalvos ya que a veces pueden medirse picos en estos organismos como consecuencia de derrames de petróleo o accidentes de barcos. Teniendo en cuenta que la media global de los niveles de PAHs totales medidos fue de 148,9 ng/g, p.s., los niveles de

contaminación por PAHs presentes en los mejillines del EBB pueden ser clasificados como moderados.

La acumulación de compuestos lipofílicos -como los PAHs- en un organismo dependerá no solo de las características propias de los compuestos sino también de las condiciones fisiológicas del individuo en estudio (ej.: tamaño, edad) y de su contenido de lípidos (Livingstone, 1991; Bruner et al., 1994; Baumard et al., 1998c; Ruiz et al., 2011).

Por ejemplo ha sido demostrado que la concentración de un compuesto hidrófobo se regirá por los niveles de lípidos presentes en el tejido; en general, los tejidos con mayor contenido de lípidos acumularán PAHs en mayor medida (Livingstone, 1992; Baumard, 1998c). Sin embargo, en este trabajo no se encontró una correlación entre los niveles de PAHs y el contenido de lípidos (Figura 4.5). Coincidentemente, la falta de correlación fue reportada en varios trabajos (Baumard et al., 1998c; Devier et al., 2005; Francioni et al., 2007; Ruiz et al., 2011; Yoshimine et al., 2012) y es atribuida al efecto que tienen tanto los procesos endógenos (ciclo reproductivo, reservas energéticas) como los exógenos (temperatura, disponibilidad de alimentos, etc.) sobre los niveles de lípidos en los organismos.

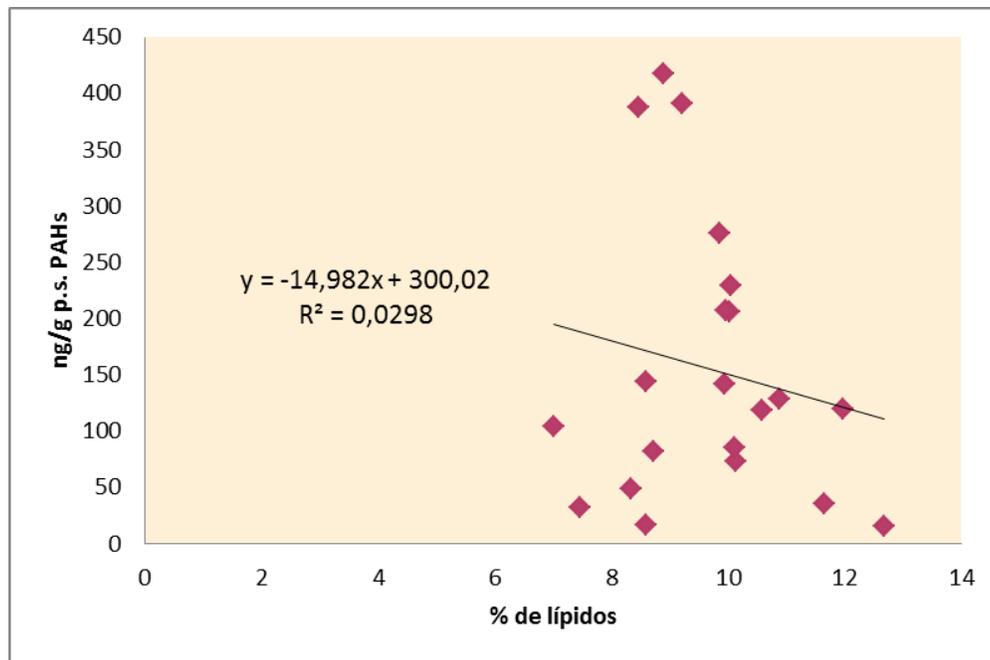


Figura 4.5. Gráfico de correlación entre el contenido de lípidos y los niveles de PAHs en los mejillines.

De manera similar a lo observado con los lípidos, el índice de condición tampoco presentó correlación con el contenido de PAHs totales en los mejillines ($r=0,2688$; $p<0,05$).

La falta de correlación entre los parámetros biológicos estudiados y las concentraciones de PAHs puede ser atribuida al efecto que tienen tanto los factores endógenos (ciclo reproductivo, reservas energéticas) como los exógenos (temperatura, disponibilidad de alimento, etc.) sobre las condiciones fisiológicas de los organismos. En este sentido y de acuerdo a lo abordado en el estudio, no se evidenciaron condiciones biológicas que condicionaran la acumulación de PAHs en los organismos.

3 COMPOSICIÓN Y ORIGEN DE LOS PAHS

Las diferentes fuentes de estos compuestos generan una distribución característica entre los diferentes PAHs. Por ello es importante para evaluar y poder determinar los posibles orígenes tener en cuenta los valores de concentración de los PAHs de forma individual, así como las relaciones existentes entre ellos.

El estudio de la composición según el número de anillos mostró que los compuestos de 2 y 3 anillos fueron predominantes en la mayoría de las muestras analizadas (97%), representando en conjunto (2+3 anillos) entre el 55,3 y el 100% de los PAHs totales (Figura 4.6). Por otro lado y de manera característica se observó que los PAHs de 5 y 6 anillos estuvieron ausentes en casi todas las muestras.

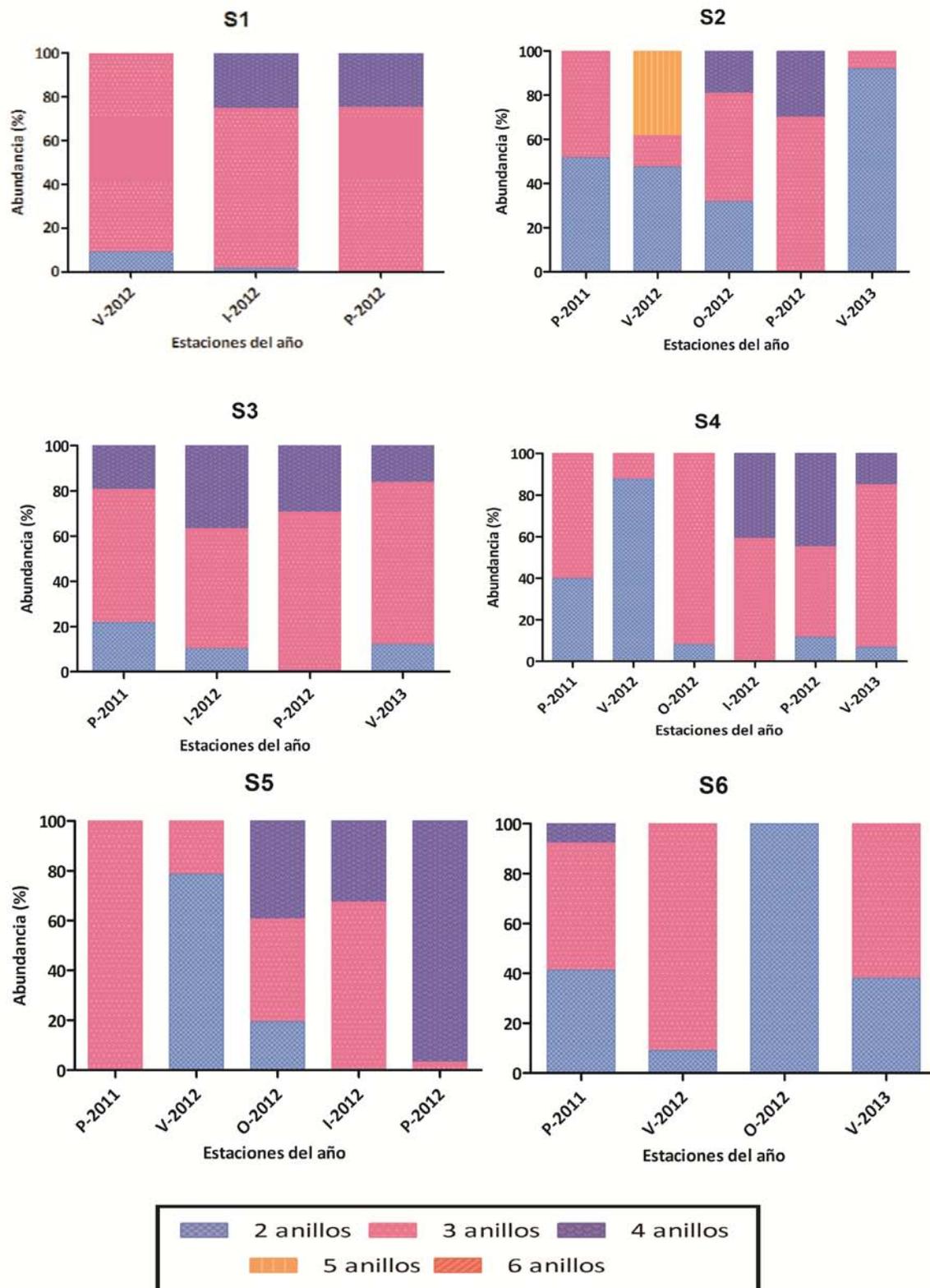


Figura 4.6. Abundancia según en número de anillos (%) para cada sitio de muestreo y estación del año.

A priori, estos resultados podrían estar indicando:

- (a) Que los mejillines del EBB están principalmente acumulando PAHs de bajo peso molecular ($PM \leq 202$) –los cuales exhiben las máximas solubilidades en columna de agua-.
- (b) Los PAHs de mayor peso molecular no están biodisponibles para los organismos.
- (c) Una combinación de estas dos últimas.

Estas hipótesis pueden ser sustentadas teniendo en cuenta que por un lado, los mejillines son organismos filtradores y por lo tanto están expuestos principalmente a los contaminantes que se encuentran en la fracción disuelta/particulada en suspensión. Por otro lado, debido al carácter hidrofóbico de los PAHs, su distribución en la columna de agua se rige principalmente por su K_{ow} (Pruell et al., 1986; Murray et al., 1991; Baumard et al., 1999a), presentando en general una relación inversa entre el K_{ow} y la solubilidad en agua de los PAHs. En general, los PAHs de menor peso molecular son los más solubles en la fase acuosa y son acumulados en mayor medida por los organismos marinos como los mejillines con respecto a los PAHs más pesados que están preferentemente asociados a la materia orgánica (disuelta o particulada), presente en la columna de agua y sedimentos (Porte & Albaigés, 1993; Baumard et al., 1998a, 1999a; Gaspare et al., 2009; Ramdine et al., 2012). Sumado a esto, los organismos en estudio fueron obtenidos de muelles, pilotes y rocas. En general los individuos que se encuentran viviendo de ese modo no están en contacto directo con los sedimentos, salvo por los procesos de resuspensión del mismo, quedando también expuestos al petróleo derivado de la actividad portuaria-industrial que puede existir sobre la parte superior de la columna de agua (Baumard et al., 1999a). Como consecuencia los mejillines del estuario de Bahía Blanca estarían más expuestos -y por lo tanto acumulando- los PAHs más solubles en agua o asociados al material particulado presente en ella.

Por otro lado no puede descartarse que la ausencia de los PAHs de mayor peso molecular pueda ser atribuida a algún mecanismo de detoxificación en los mejillines. Sin embargo, como se mencionó previamente, se ha documentado que tanto los mejillines como la mayoría de los moluscos bivalvos tienen baja capacidad enzimática por lo que la eliminación de los compuestos se debe fundamentalmente a procesos de difusión pasiva o excreción (Meador et al., 1995). Por lo tanto, si bien esta hipótesis no parece ser probable, no puede ser descartada por completo, ya que se carece de estudios que evalúen la capacidad enzimática del mejillín *Brachidontes rodriguezii*.

Al analizar los PAHs de manera individual se observó que el PHE fue el compuesto más abundante, seguido por el NA y el PY (Figura 4.7). En todas las muestras donde se detectaron niveles de PAHs el PHE estuvo presente con valores que oscilaron desde 1,2 ng/g, p.s hasta 279,43 ng/g, p.s. Estos resultados son coincidentes con aquellos encontrados en los sedimentos, donde el PHE y el PY también fueron los PAHs que presentaron las mayores abundancias. Como se mencionó en el capítulo de sedimentos, el PHE y el PY son marcadores de la combustión de maderas y carbón, mientras que el NA puede ser atribuido a un origen petrógeno. Estos resultados sugieren orígenes mixtos (petrógenos y pirolíticos) para los PAHs presentes en los mejillines del estuario de Bahía Blanca.

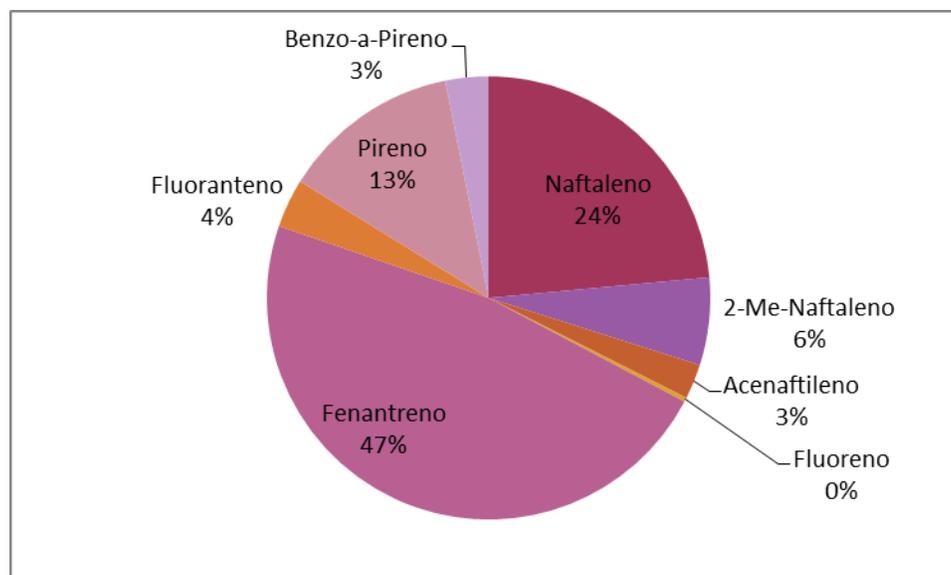


Figura 4.7. Contribución porcentual de cada PAH al total de PAHs para todos los mejillines del Estuario de Bahía Blanca.

3.1 Comparación entre los niveles de PAHs en sedimentos y mejillines

La comparación de la distribución de los PAHs según el número de anillos entre sedimentos y mejillines permite concluir que la distribución en ambas matrices presentó un patrón similar pero con ciertas particularidades. En primer lugar, en los sedimentos los PAHs más abundantes fueron los de 3 y 4 anillos, mientras que en los mejillines fueron los de 2 y 3 anillos. En segundo lugar, en la biota se observó una disminución en la abundancia de los PAHs de 4 anillos (con respecto a los sedimentos) y la ausencia de los PAHs de 5 y 6 anillos, los que sí estuvieron presentes en los sedimentos. Finalmente, en ambas matrices, el PHE y el PY fueron de los PAHs que presentaron las mayores abundancias.

Con el fin de poder encontrar posibles relaciones, la distribución de los PAHs totales en los mejillines se comparó con los valores de PAHs totales hallados en los sedimentos (Figura 4.8). A pesar de no haber hallado correlaciones estadísticamente significativas entre ambas variables (coeficiente de correlación de

Spearman: $r=0,32$ $p<0,050$) se observó que las muestras obtenidas en la zona de máxima actividad portuaria-industrial (S3) presentaron los niveles más altos de PAHs totales tanto en sedimento como en mejillines. Del mismo modo, los valores más bajos de estos compuestos tanto en sedimentos como en mejillines fueron hallados en el sitio con menor impacto antrópico -Villa del Mar (S1)-. (Figura 4.8).

Al comparar la relación entre los niveles de PAHs hallados en sedimentos y mejillines es muy importante tener en cuenta la biodisponibilidad, es decir la susceptibilidad de un compuesto presente en la matriz sedimentaria para ser incorporado por un organismo. Así, un individuo puede estar en contacto con un sedimento con altas concentraciones de un compuesto y sin embargo, éste último no estar "biodisponible" para el mismo. Una de las mayores ventajas del empleo de organismos como biomonitores radica en que los niveles hallados en ellos reflejan la **fracción biodisponible** de los PAHs presentes en el ambiente estudiado.

La biodisponibilidad de un compuesto hidrofóbico dependerá principalmente tanto de las características fisicoquímicas del sedimento (contenido y calidad de materia orgánica, granulometría, etc.), como de las propias características del compuesto (coeficiente de partición octanol-agua, tamaño molecular). Finalmente, una vez que el compuesto es incorporado por el organismo, puede ser simplemente acumulado en los tejidos lipídicos, puede interactuar con moléculas endógenas o puede ser excretado.

En cuanto a las características fisicoquímicas del sedimento, los que tienen alto contenido de materia orgánica tienden a retener compuestos orgánicos hidrofóbicos, y como consecuencia disminuir su biodisponibilidad (Knezovich et al., 1987; Baumard et al., 1998a), mientras que la granulometría influye teniendo en cuenta que los PAHs de mayor peso molecular tienden a asociarse en mayor medida a las partículas más finas (Readman et al., 1984; Ramdline et al., 2012).

Las diferentes rutas de ingreso de los PAHs a los sistemas acuáticos son también un factor crítico al evaluar su biodisponibilidad. Por ejemplo, los PAHs que ingresan

al sistema acuático a partir del petróleo crudo o sus derivados suelen estar más biodisponibles que los PAHs que ingresan asociados a partículas -como el hollín-, a las cuales suelen estar fuertemente unidos (Readman et al., 1982; Benlahcen et al., 1997; Thorsen et al., 2004). Estos últimos están menos biodisponibles ya que al estar adsorbidos o asociados a materia orgánica (ya sea disuelta o particulada) requieren una fase intermedia para pasar a la fracción disuelta y así poder ser incorporados por los organismos (Pruell et al., 1986).

En los sedimentos del Estuario de Bahía Blanca se observó una prevalencia de los aportes pirolíticos por sobre los petrógenicos incluyendo compuestos de alto peso molecular, sin embargo estos no se hallaron bioacumulados en los organismos analizados. Teniendo en cuenta la biodisponibilidad de los PAHs y los factores que la determinan, la ausencia de los PAHs de mayor peso molecular podría ser consecuencia del modo en el cual estos compuestos son emitidos al ambiente, puesto que los PAHs pirolíticos emitidos al estuario de Bahía Blanca estarían fuertemente asociados a partículas, como carbón o hollín y como consecuencia estarían menos biodisponibles para los organismos marinos.

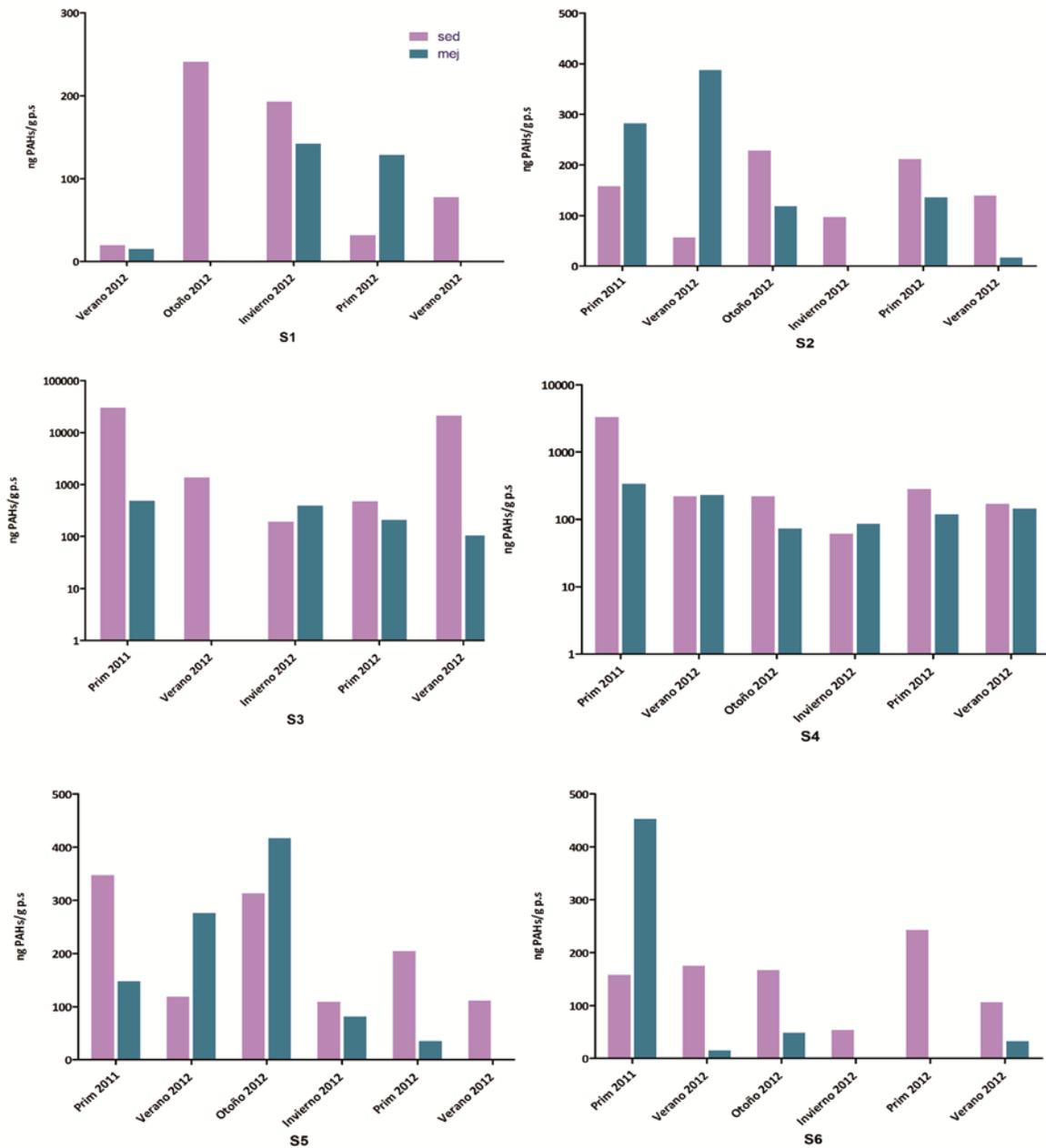


Figura 4.8. Comparación entre los valores de PAHs totales en sedimentos y mejillines para todas las muestras obtenidas agrupadas según estación del año y sitio de muestreo.

3.2 Bioacumulación de los PAHs en *Brachidontes rodriguezii*

En la literatura existen numerosos modelos para evaluar la bioacumulación de los PAHs en los organismos a partir de los sedimentos. Uno de los más ampliamente utilizados es el **Factor de Bioacumulación (BAF)** (Baumard et al., 1999a, 1999b; Ramdline et al., 2012), el cual se calcula a partir del siguiente cálculo:

$$BAF = C_b / C_s$$

Donde C_b es concentración de PAHs en el tejido del organismo y C_s es concentración de PAHs en el sedimento.

Para todas las muestras donde fue posible el cálculo se obtuvieron los BAFs correspondientes (Tabla 4.1). El PHE fue el compuesto que más se bioacumuló, presentando valores de BAF >1 en el 63% de las muestras y con un BAF promedio para todas las muestras de 7,21 lo cual reflejaría la contribución de los sedimentos a la bioacumulación de PHE en los mejillines. Por otro lado, para el resto de los PAHs analizados e incluso para la suma de todos los PAHs analizados (Σ PAHs) se observaron resultados variables para todos los sitios, encontrándose de manera alternada valores elevados y bajos de BAFs para los PAHs analizados. Para los PAHs de 4 anillos como el PY y el FLU se observaron valores en general muy bajos de BAF o incluso iguales a cero, lo cual indica, que la tasa de captación de estos PAHs, en los mejillines, fueron muy bajos (con respecto a los sedimentos).

Estos resultados en conjunto con la ausencia de los PAHs de mayor peso molecular que estuvieron presentes en los sedimentos, favorecen la hipótesis de que los PAHs de más de 4 anillos no estarían biodisponibles para los mejillines del estuario de Bahía Blanca. Los mejillines se caracterizaron por bioacumular los PAHs más livianos, lo cual conduce a pensar que la principal vía de ingreso de estos compuestos a los mencionados organismos sea a partir de la columna de agua. Los sedimentos, mediante procesos de resuspensión también podrían ser fuente

de los PAHs más livianos, como el PHE para el cual se encontraron valores de BAF elevados.

Tabla 4.1. Valores de BAF calculados para los mejillines del Estuario de Bahía Blanca.

Fecha y sitio	NA	2-M-NA	ACY	FL	PHE	FLU	PY	Σ PAHs
Verano 2012 S1	nc	1	nc	nc	2,97	0,00	0,00	0,56
Invierno 2012 S1	0,02	0,10	nc	0,00	1,59	0,77	1,16	0,70
Primavera 2012 S1	0,00	0,00	nc	nc	96,76	0,00	28,84	4,05
Primavera 2011 S2	115,60	30,49	nc	0,00	19,09	0,00	0,00	1,79
Verano 2012 S2	170,30	0,76	nc	0,00	6,09	0,00	0,00	6,81
Otoño 2012 S2	1,20	0,00	nc	0,00	0,74	0,00	0,52	0,52
Primavera 2012 S2	0,00	0,00	nc	0,00	2,03	0,00	0,97	0,64
Verano 2013 S2	0,00	1,13	nc	nc	0,02	0,00	0,00	0,09
Primavera 2011 S3	0,05	0,04	0,05	0,00	0,08	0,00	0,02	0,02
Invierno 2012 S3	0,11	4,63	1,20	0,00	3,39	3,02	2,24	2,02
Primavera 2012 S3	0,00	0,15	0,00	nc	1,99	25,95	0,41	0,43
Verano 2013 S3	0,00	0,42	nc	0,01	0,02	0,00	0,00	0,00
Primavera 2011 S4	9,24	15,85	nc	0,00	2,07	0,00	0,00	0,10
Verano 2012 S4	4,57	13,39	nc	0,00	0,48	0,00	0,00	1,03
Otoño 2012 S4	0,00	0,34	nc	0,00	1,09	0,00	0,00	0,33
Invierno 2012 S4	nc	0,00	nc	0,11	3,81	0,13	2,61	1,34
Primavera 2012 S4	0,00	2,58	nc	0,00	0,70	0,99	1,81	0,42
Verano 2013 S4	nc	0,93	26,24	0,00	2,00	0,00	0,64	0,84
Primavera 2011 S5	0,00	nc	nc	0,00	4,04	nc	0,00	0,42
Verano 2012 S5	14,90	11,49	nc	0,00	1,82	0,00	0,00	2,32
Otoño 2012 S5	0,73	1,61	51,43	0,00	1,83	52,62	2,22	1,33
Invierno 2012 S5	nc	0,00	nc	0,00	4,46	nc	0,62	0,74
Primavera 2012 S5	0,00	0,00	nc	0,00	0,01	0,00	1,23	0,15
Primavera 2011 S6	162,20	24,46	nc	0,00	36,68	0,00	0,79	2,87
Verano 2012 S6	0,00	1,00	nc	0,00	0,18	nc	nc	0,06
Otoño 2012 S6	1,38	0,00	nc	0,00	0,00	0,00	0,00	0,29
Verano 2013 S6	nc	1,06	nc	0,00	0,77	0,00	0,00	0,30

nc: No calculado, el compuesto estuvo por debajo del LD en las dos matrices analizadas
El valor de 0,00 indica que el compuesto estuvo presente en los sedimentos pero en los mejillines estuvo por debajo del LD

4 COMPARACIÓN DE LOS NIVELES DE PAHS CON OTROS SITIOS COSTEROS

Los mejillones y otros moluscos bivalvos han sido ampliamente utilizados para la vigilancia en las zonas costeras de todo el mundo. A modo de ejemplo puede citarse el "Mussel Watch Program" que es el programa de monitoreo continuo más extenso, establecido por la NOAA desde 1986 para la vigilancia ambiental de las zonas costeras de los EE UU. La Tabla 4.2 presenta los valores de PAHs totales (en rangos) hallados en diferentes especies de mejillones y ostras en diversos sitios costeros del mundo. Entre los antecedentes bibliográficos explorados para la presente Tesis Doctoral, no se encontraron trabajos en los que se hayan usado como biomonitor la especie aquí estudiada, a excepción de un trabajo realizado previamente en la zona de interés en el cual se la utilizó en combinación con otras especies (Arias et al., 2009).

El rango de niveles de PAHs hallados para los mejillines del Estuario de Bahía Blanca se ubicó en niveles medios con respecto a otros sitios costeros, observándose que los valores reportados en este trabajo fueron menores a los únicos precedentes para la zona (Arias et al., 2009).

Tabla 4.2. Rango de niveles de PAHs totales hallados en moluscos bivalvos de diferentes sitios costeros del mundo.

Organismo	Lugar	Nº de PAHs	Rango (ng/g)p.s.	Referencia
Europa				
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Golfo Sarónico, Grecia	17	1300-1800	Valavanidis et al., 2008
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Costas de Galicia, España	13	17-7780	Soriano et al., 2006
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Rías de Pontevedra y Vigo, España	16	80-517	Vidal-Liñán et al., 2010
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Costas N-NO de España	12	3-1015	González-Fernández et al., 2015
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Ria de Vigo, España	13	24-1007	Viñas et al., 2012
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Bahía de Vizcaya,	14	21- 64	Orbea et al., 2002
<i>Crassostrea rhizophorae</i>	Guadalupe, Mar Caribe, Francia	20	69-961	Ramdine et al., 2012
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Istanbul strait, Turquía	16	43 - 601	Karacik et al., 2009
<i>Mytilus edulis</i>	Lagos Strangford y Larne, Irlanda	13	95-184	Guinan et al., 2001
<i>Mytilus edulis</i>	Puerto de Lynæs, Dinamarca	19	473-4160	Rank et al., 2009
<i>Mactra corallina and Tapes decussata</i>	Bahía de Abu Qir, Egipt	16	242-2830	Khairy et al., 2009
<i>Mytilus edulis</i>	Mar de Barents Tromsø, Noruega	16	< 5-22 *	Nahrgang et al., 2013
Africa				
<i>Saccostrea cucullata</i>	Dar es-Salaam, Tanzania	23	174-647	Gaspere et al., 2009
Asia				
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Playa Mokpo, Korea	16	< LD-96	Namiesnik et al., 2008
<i>Perna viridis</i>	Costas Sur y Sudeste de Asia	19	11-1133	Isobe et al., 2007
América				
<i>Mytilus californianus</i>	Estuario de San Francisco, USA	25	21-1093	Oros and Ross, 2005
<i>Perna perna</i>	Bahía de Guanabara, Brasil	16	69-239	Yoshimine et al., 2012
<i>Mytella charruana</i>	Mundaú Lagoon, Brasil	16	5-145	Maioli et al., 2010
<i>Aulacomya atra atra y Tellina petitiana</i>	Bahía Nueva, Patagonia Argentina	16	780-2010	Massara Paletto et al., 2008
<i>Brachidontes sp and tagelus sp</i>	Estuario de Bahía Blanca	17	349-1597	Arias et al., 2009
<i>Brachidontes rodriguezii</i>	Estuario de Bahía Blanca	17	<LD-482	Este trabajo

* resultados expresados en peso húmedo; <LD: menor al límite de detección

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES FINALES

El objetivo general del presente trabajo de Tesis Doctoral fue estudiar, monitorear y consolidar el conocimiento del estado de impacto, flujo y transferencia a compartimentos bióticos de los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (PAHs), generando así información aplicable a la gestión y manejo sostenible del Estuario de Bahía Blanca. Durante el desarrollo de esta tesis se determinaron los niveles de 17 Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en sedimentos superficiales y moluscos bivalvos autóctonos (*Brachidontes rodriguezii*) del Estuario de Bahía Blanca y se evaluó de manera inédita el uso del mejillín *B. rodriguezii* como un posible organismo centinela para la vigilancia ambiental del área de estudio. En base a los resultados obtenidos se pueden obtener las siguientes conclusiones generales:

- En este trabajo de tesis doctoral se ha demostrado y comprobado la acumulación de PAHs tanto en los sedimentos como en los mejillines del Estuario de Bahía Blanca. Las concentraciones halladas permitieron clasificar la zona como de niveles moderados de contaminación en relación a otros sitios costeros similares alrededor del mundo.
- Los máximos niveles de PAHs para ambas matrices fueron encontrados en la zona de mayor actividad portuaria-industrial, observándose una disminución de los niveles de PAHs a medida que la distancia a los sitios industriales o más densamente poblados aumentaba. Esto permite corroborar la importancia de las actividades antropogénicas en la emisión de PAHs al Estuario de Bahía Blanca.
- En cuanto al origen de los PAHs presentes en los sedimentos se concluye que si bien el área de estudio recibió aportes mixtos de PAHs (petrógeno + pirolítico), los procesos de combustión tanto de combustibles fósiles como de biomasa fueron la fuente predominante de estos compuestos. Con el empleo

de ACP se logró clasificar a las muestras en dos grupos principales: el primer grupo incluyó las muestras que presentaron los niveles más altos de PAHs totales obtenidas en la zona de máxima actividad industrial, quienes se caracterizaron por presentar un fuerte impronta pirolítica. El otro grupo incluyó las muestras de los otros sitios estudiados, que se caracterizaron por presentar indicios de una impronta mixta (pirolítica y petrogénica).

- En cuanto a la variación estacional de las fuentes de PAHs se concluye que la quema de combustibles fósiles fue la fuente que predominó durante el periodo estudiado, observándose durante la primavera un aumento de puntuaciones pirolíticas producto de la combustión de biomasa. Este último fenómeno estaría ligado al aumento de las actividades antropogénicas (tanto industriales como domésticas) durante los meses más fríos.
- El análisis ecotoxicológico mediante el empleo de niveles guías, permite predecir ocasionales y frecuentes efectos biológicos adversos sobre la biota asociada a los sedimentos, ya que se demostró que los valores de ERL y ERM para los PAHs individuales fueron superados en varias ocasiones. A futuro deberían desarrollarse estudios que permitan verificar este postulado.
- En cuanto al potencial carcinogénico de los sedimentos se puede concluir que las abundancias de los PAHs con potencial carcinogénico fueron variables, representado entre el 15 y el 68% de los PAHs totales presentes en los sedimentos. Los valores de PAHs expresados como equivalentes del BaP (TEQ-BaP), presentaron los registros más altos en los sitios cercanos a la zona industrial, lo cual podría sugerir que las actividades industriales que se desarrollan en la zona podrían desempeñar un papel importante en la liberación de los PAHs con potencial cancerígeno al medio. Los valores de TEQ-BaP fueron mayores a los reportados previamente en la zona.
- Los mejillines se caracterizaron por bioacumular los PAHs más livianos (2-3 anillos), mientras que los PAHs de 5 y 6 anillos estuvieron ausentes en casi

todas las muestras. A partir de los resultados obtenidos y de la comparación de la distribución de los PAHs en ambas matrices se concluye que la principal vía de ingreso de estos compuestos a los mejillines sea probablemente a partir de la columna de agua. Los sedimentos, mediante procesos de resuspensión también podrían ser fuente de los PAHs ya que los cálculos de bioacumulación en la biota a partir de los sedimentos mostraron en algunos casos indicios de bioacumulación.

- Se destaca la importancia del uso de organismos como complemento de los análisis en matrices abióticas, ya que los niveles hallados en los individuos reflejan la fracción biodisponible de los contaminantes presentes en el ambiente estudiado.
- En cuanto al uso del mejillín *Brachidontes rodriguezii* como organismo centinela se concluye que son necesarios estudios futuros sobre la especie, que evalúen más a fondo su biología (ej.: sus ciclos reproductivos, etapa de desove, capacidad enzimática, etc.) debido a la importancia que tienen las condiciones fisiológicas del organismo en la distribución y bioacumulación de los contaminantes presentes en el medio que habitan. Los estudios del índice de condición, contenido de lípidos, etc. realizados en esta tesis sientan las bases para mejorar el conocimiento sobre esta especie, a fin de poder implementar en el corto plazo su uso como organismo centinela en el Estuario de Bahía Blanca.

Finalmente y en base a los resultados obtenidos se plantean las siguientes propuestas:

- Realizar estudios *in vitro* con sedimentos del estuario de Bahía Blanca: la gran cantidad de factores que influyen sobre la biodisponibilidad de los PAHs en sistemas como el que aquí se estudia hacen que se destaque la necesidad

significativa de realizar este tipo de estudios, ya que sus resultados serían sumamente valiosos para poder entender mejor los mecanismos que gobiernan tanto la distribución de los PAHs en las distintas fases como su biodisponibilidad en la zona de estudio. De la misma manera, se podría iniciar una evaluación tendiente a identificar y cuantificar los efectos deletéreos que producen estos compuestos, en las concentraciones medidas, a los organismos del estuario.

- El presente trabajo sustenta que las actividades antrópicas influyen de manera directa sobre el Estuario de Bahía Blanca. Se concluye finalmente la importancia de continuar con el monitoreo de esta zona y de la realización de trabajos multidisciplinarios donde se evalúen no solo los niveles de los compuestos potencialmente contaminantes (PAHs, PCBs, metales pesados, etc.) sino también de los efectos biológicos que estos compuestos tienen sobre los organismos que habitan el Estuario de Bahía Blanca.

BIBLIOGRAFÍA

- Abdolahpur Monikh, F., Hosseini, M., Kazemzadeh Khoei, J. & Ghasemi, A. F. (2014). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Levels in Sediment, Benthic, Benthopelagic and Pelagic Fish Species from the Persian Gulf. *International Journal of Environmental Research*, 8(3), 839-848.
- Abdollahi, S., Raoufi, Z., Faghiri, I., Savari, A., Nikpour, Y. & Mansouri, A. (2013). Contamination levels and spatial distributions of heavy metals and PAHs in surface sediment of Imam Khomeini Port, Persian Gulf, Iran. *Marine Pollution Bulletin*, 71 (1), 336–345.
- Acosta, V., Prieto, A. & Lodeiros, C. (2006). Índice de condición de los mejillones *Perna perna* y *Perna viridis* (Bivalvia: Mytilidae) bajo un sistema suspendido de cultivo en la Ensenada de Turpialito, Golfo de Cariaco, Venezuela. *Zootecnia Trop*, 24(2), 177-192.
- Acquavita, A., Falomo, J., Predonzani, S., Tamberlich, F., Bettoso, N. & Mattassi, G. (2014). The PAH level, distribution and composition in surface sediments from a Mediterranean Lagoon: The Marano and Grado Lagoon (Northern Adriatic Sea, Italy). *Marine pollution bulletin*, 81(1), 234-241.
- Adami, M. L., Tablado, A. & Gappa, J. L. (2004). Spatial and temporal variability in intertidal assemblages dominated by the mussel *Brachidontes rodriguezii* (d'Orbigny, 1846). *Hydrobiologia*, 520(1-3), 49-59.
- Aldarondo-Torres, J.X., Samara, F., Mansilla-Rivera, I., Aga, D.S. & Rodríguez-Sierra, C.J. (2010). Trace metals, PAHs, and PCBs in sediments from the Jobos Bay area in Puerto Rico, *Marine Pollution Bulletin*, 60(8), 1350–1358.
- Amin, O.A., Comoglio, L.I. & Sericano, J.L., (2011). Polynuclear aromatic and chlorinated hydrocarbons in mussels from the coastal zone of Ushuaia, Tierra del Fuego, Argentina. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30(3), 521-529.

- Arias A.H. (2008). Comportamiento de los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (PAHs) en agua, sedimentos y organismos de la zona interna del estuario de Bahía Blanca. Tesis doctoral, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina pp, 105-110.
- Arias, A. H., Spetter, C. V., Freije, R. H. & Marcovecchio, J. E. (2009). Polycyclic aromatic hydrocarbons in water, mussels (*Brachidontes sp.*, *Tagelus sp.*) and fish (*Odontesthes sp.*) from Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 85(1), 67-81.
- Arias, A. H., Vazquez-Botello, A., Tombesi, N., Ponce-Velez, G., Freije, H. & Marcovecchio, J. (2010a). Presence, distribution, and origins of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sediments from Bahía Blanca estuary, Argentina. *Environmental Monitoring and Assessment*, 160(1), 301-314.
- Arias, A. H., Marcovecchio, J. E., Freije, R. H., Ponce-Velez, G. & Vazquez-Botello, A. (2010b). Análisis de fuentes y toxicidad equivalente de sedimentos contaminados con PAHs en el Estuario de Bahía Blanca, Argentina. *Hidrobiológica*, 20(1), 41-56.
- Arrieche, D., Licet, B., García, N., Lodeiros, C. & Prieto, A. (2002). Índice de condición, gonádico y de rendimiento del mejillón marrón *Perna perna* (Bivalvia: Mytilidae), del morro de guarapo, Venezuela. *Interciencia*, 27(11), 613-619.
- Baumard, P., Budzinski, H., Michon, Q., Garrigues, P., Burgeot, T. & Bellocq, J. (1998a). Origin and bioavailability of PAHs in the Mediterranean Sea from mussel and sediment records. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 47(1), 77-90.
- Baumard, P., Budzinski, H., Garrigues, P., Sorbe, J. C., Burgeot, T. & Bellocq, J. (1998b). Concentrations of PAHs (polycyclic aromatic hydrocarbons) in various marine organisms in relation to those in sediments and to trophic level. *Marine Pollution Bulletin*, 36(12), 951-960.
- Baumard, P., Budzinski, H. & Garrigues, P. (1998c). Polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments and mussels of the western Mediterranean Sea. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17(5), 765-776.

- Baumard, P., Budzinski, H., Garrigues, P., Narbonne, J. F., Burgeot, T., Michel, X. & Bellocq, J. (1999a). Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) burden of mussels (*Mytilus sp.*) in different marine environments in relation with sediment PAH contamination, and bioavailability. *Marine Environmental Research*, 47(5), 415-439.
- Baumard, P., Budzinski, H., Garrigues, P., Dizer, H. & Hansen, P. D. (1999b). Polycyclic aromatic hydrocarbons in recent sediments and mussels (*Mytilus edulis*) from the Western Baltic Sea: occurrence, bioavailability and seasonal variations. *Marine Environmental Research*, 47(1), 17-47.
- Bayne, B. L. (2004). Phenotypic flexibility and physiological tradeoffs in the feeding and growth of marine bivalve molluscs. *Integrative and Comparative Biology*, 44(6), 425-432.
- Bellas, J., Nieto, Ó. & Beiras, R. (2011). Integrative assessment of coastal pollution: development and evaluation of sediment quality criteria from chemical contamination and ecotoxicological data. *Continental Shelf Research*, 31(5), 448-456.
- Benlahcen, K. T., Chaoui, A., Budzinski, H., Bellocq, J. & Garrigues, P. H. (1997). Distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in some Mediterranean coastal sediments. *Marine Pollution Bulletin*, 34(5), 298-305.
- Beninger, P. G. & Lucas, A. (1984). Seasonal variations in condition, reproductive activity, and gross biochemical composition of two species of adult clam reared in a common habitat: *Tapes decussatus* L. (Jeffreys) and *Tapes philippinarum* (Adams & Reeve). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 79(1), 19-37.
- Bligh, E. G. & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian journal of biochemistry and physiology*, 37(8), 911-917.
- Boonyatumanond, R., Wattayakorn, G., Togo, A. & Takada, H. (2006). Distribution and origins of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in riverine, estuarine, and

- marine sediments in Thailand. *Marine Pollution Bulletin*, 52, 942–956.
- Boscolo, R., Cacciatore, F. & Giovanardi, O. (2007). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in transplanted Manila clams (*Tapes philippinarum*) from the Lagoon of Venice as assessed by PAHs/shell weight index: A preliminary study. *Marine pollution bulletin*, 55(10), 485-493.
- Botello, A. V., García-Ruelas, C. & Ponce-Vélez, G. (2002). PAH levels in bivalve mollusks from the Mexican subtropical Pacific. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 69(4), 486-493.
- Botello, A. V., Soto, L. A., Ponce-Vélez, G. & Villanueva, S. (2015). Baseline for PAHs and metals in NW Gulf of Mexico related to the Deepwater Horizon oil spill. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 156,124-133.
- Bouloubassi, I. & Saliot, A. (1993). Dissolved, particulate and sedimentary naturally derived polycyclic aromatic hydrocarbons in a coastal environment: geochemical significance. *Marine Chemistry*, 42(2), 127-143.
- Bourgeault, A. & Gourlay-Francé, C. (2013). Monitoring PAH contamination in water: Comparison of biological and physico-chemical tools. *Science of the Total Environment*, 454, 328-336.
- Bruner, K. A., Fisher, S. W. & Landrum, P. F. (1994). The role of the zebra mussel, *Dreissena polymorpha*, in contaminant cycling: I. The effect of body size and lipid content on the bioconcentration of PCBs and PAHs. *Journal of Great Lakes Research*, 20(4), 725-734.
- Budzinski, H., Jones, I., Bellocq, J., Pie'rard, C. & Garrigues, P. (1997). Evaluation of sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbon in the Gironde estuary. *Marine Chemistry*, 58 (1), 85–97.
- Burguess, R.M., Ahrens, M.J. & Hickey, C.W. (2003). Geochemistry of PAHs in aquatic environments: source, persistence and distribution. En: Douben, P.E.T. (Ed.), *PAHs: An Ecotoxicological Perspective*. John Wiley & Sons, Chichester, pp. 35–45.

- Capelli de Steffens, A.M. & Campo de Ferraras, A.M. (2004). Climatología. En: Piccolo, M.C. y Hoffmeyer, M.S. (Eds.). El ecosistema del Estuario de Bahía Blanca. Instituto Argentino de Oceanografía, Bahía Blanca, Argentina, pp. 69-78.
- Carreras, H. A., Calderón-Segura, M. E., Gómez-Arroyo, S., Murillo-Tovar, M. A. & Amador-Muñoz, O. (2013). Composition and mutagenicity of PAHs associated with urban airborne particles in Córdoba, Argentina. *Environmental Pollution*, 178, 403-410.
- Chase, M. E., Jones, S. H., Hennigar, P., Sowles, J., Harding, G. C. H., Freeman, K., Wells, P.G., Kranforstm, C., Coombs, K., Crawford, R., Pederson, J. & Taylor, D. (2001). Gulfwatch: Monitoring spatial and temporal patterns of trace metal and organic contaminants in the Gulf of Maine (1991–1997) with the blue mussel, *Mytilus edulis* L. *Marine Pollution Bulletin*, 42(6), 490-504.
- Chen, C.W. & Chen, C.F. (2011) Distribution, origin, and potential toxicological significance of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sediments of Kaohsiung Harbor, Taiwan. *Marine Pollution Bulletin*, 63,417–23.
- Chen, C.F., Chen, C.W., Dong, C.D. & Kao, C.M. (2013). Assessment of toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments of Kaohsiung Harbor, Taiwan. *Science of the Total Environment*, 463–464, 1174–1181.
- Cheung, K. C., Leung, H. M., Kong, K. Y. & Wong, M. H. (2007). Residual levels of DDTs and PAHs in freshwater and marine fish from Hong Kong markets and their health risk assessment. *Chemosphere*, 66(3), 460-468.
- Chiou, C. T., McGroddy, S. E. & Kile, D. E. (1998). Partition characteristics of polycyclic aromatic hydrocarbons on soils and sediments. *Environmental Science & Technology*, 32(2), 264-269.
- Chung, M. K., Hu, R., Cheung, K. C. & Wong, M. H. (2007). Pollutants in Hong Kong soils: polycyclic aromatic hydrocarbons. *Chemosphere*, 67(3), 464-473.
- Cincinelli, A., Stortini, A. M., Perugini, M., Checchini, L. & Lepri, L. (2001). Organic pollutants in sea-surface microlayer and aerosol in the coastal environment of

- Leghorn—(Tyrrhenian Sea). *Marine Chemistry*, 76(1), 77-98.
- Colombo, J. C., Pelletier, E., Brochu, C., Khalil, M. & Cattogio, J. A. (1989). Determination of hydrocarbon sources using n-alkane and polyaromatic hydrocarbon distribution indexes. Case study: Río de la Plata estuary, Argentina. *Environmental Science & Technology*, 23(7), 888–894.
- Colombo, J. C., Barreda, A., Bilos, C., Cappelletti, N., Migoya, M. C., Demichelis, S., Lombardi, P., Migoya, M.C., Skorupka, C. & Suárez, G. (2005). Oil spill in the Río de la Plata estuary, Argentina: 1. Biogeochemical assessment of waters, sediments, soils and biota. *Environmental Pollution*, 134(2), 277–289.
- Colombo, J.C., Cappelletti, N., Laschi, J., Migoya, M., Speranza, E. & Skorupka, C., (2006). Sources, vertical fluxes, and equivalent toxicity of aromatic hydrocarbons in coastal sediments of the Río de la Plata Estuary, Argentina. *Environmental Science & Technology*, 40(3), 734-740.
- Commendatore, M.G. & Esteves, J.L. (2007). An assessment of oil pollution in the coastal zone of Patagonia, Argentina. *Environmental Management*, 40(5), 814-821.
- Commendatore, M.G., Nievas, M.L, Amin O. & Esteves, J.L. (2012). Sources and distribution of aliphatic and polyaromatic hydrocarbons in coastal sediments from the Ushuaia Bay (Tierra del Fuego, Patagonia, Argentina). *Marine environmental Research*, 74, 20-31.
- Costanza R. (1994). Ecological economics and the management of coastal and estuarine ecosystems. En: *Changes in fluxes in estuaries: implications from Science to Management*. Dyer, Orth, (Eds) ECSA/ERF Symposium, Univ. of Plymouth, pp. 485.
- Couillard, Y., Campbell, P. G. C., Auclair, J. G. & Pellerin-Massicotte, J. (1995). Field transplantation of a freshwater bivalve, *Pyganodon grandis*, across a metal contamination gradient. II. Metallothionein response to Cd and Zn exposure, evidence for cytotoxicity, and links to effects at higher levels of biological

- organization. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 52(4), 703-715.
- Culotta, L., De Stefano, C., Gianguzza, A., Mannino, M.R. & Orecchio, S. (2006). The PAH composition of surface sediments from Stagnone coastal lagoon, Marsala (Italy). *Marine Chemistry* 99, 117–127.
- Countway, R. E., Dickhut, R. M. & Canuel, E. A. (2003). Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) distributions and associations with organic matter in surface waters of the York River, VA Estuary. *Organic Geochemistry*, 34(2), 209-224.
- Cuadrado, D.G., Ginsberg, S.S. & Gómez, E.A. (2004). Geomorfología. En: Piccolo, M.C. y Hoffmeyer, M.S. (Eds.). *Ecosistema del Estuario de Bahía Blanca*. Instituto Argentino de Oceanografía, Argentina, Bahía Blanca, Argentina, pp. 29-42.
- Dahle, S., Savinov, V. M., Matishov, G. G., Evenset, A. & Næs, K. (2003). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in bottom sediments of the Kara Sea shelf, Gulf of Ob and Yenisei Bay. *The Science of the Total Environment*, 306 (1), 57–71.
- Devier, M. H., Augagneur, S., Budzinski, H., Le Menach, K., Mora, P., Narbonne, J. F. & Garrigues, P. (2005). One-year monitoring survey of organic compounds (PAHs, PCBs, TBT), heavy metals and biomarkers in blue mussels from the Arcachon Bay, France. *Journal of Environmental Monitoring*, 7(3), 224-240.
- Elías R., Iribarne O., Bremec C. & Martínez D. (2004). Comunidades incrustantes de fondos blandos. En: Piccolo, M. C. y Hoffmeyer, M. S. (Eds.), *Ecosistema del estuario de Bahía Blanca*, Instituto Argentino de Oceanografía, Bahía Blanca, Argentina, pp 171-178.
- Esteves, J.L., Commendatore, M.G., Nievas, M.L., Massara Paletto, V. & Amín, O. (2006). Hydrocarbon pollution in coastal sediments of Tierra del Fuego islands, Patagonia Argentina. *Marine Pollution Bulletin*, 52(2), 582-590.
- Farrington, J. W., Goldberg, E. D., Risebrough, R. W., Martin, J. H. & Bowen, V. T. (1983). US "Mussel Watch" 1976-1978: an overview of the trace-metal, DDE, PCB, hydrocarbon and artificial radionuclide data. *Environmental science &*

- technology, 17(8), 490-496.
- Francioni, E., de LR Wagener, A., Scofield, A. D. L., Depledge, M. H., Cavalier, B., Sette, C. B., Carvaose, L., Lozinsky, C. & Mariath, R. (2007). Polycyclic aromatic hydrocarbon in inter-tidal mussel *Perna perna*: Space–time observations, source investigation and genotoxicity. *Science of the total environment*, 372(2), 515-531.
- Freije, R.H., Spetter, C.V., Marcovecchio, J.E., Popovich, C.A., Botte, S.E., Negrin, V., Arias, A., Delucchi, F. & Asteasuain, R.O. (2008). Water chemistry and nutrients in the Bahía Blanca Estuary. En: Neves, R., Baretta, J. y Mateus, M. (eds.). *Perspectives on integrated coastal zone management in South America*. IST Press, Scientific Publishers, Lisboa, Portugal. pp. 243-256.
- Gabbott, P.A. (1983). Developmental and seasonal changes metabolic activities in marine molluscs. En: Hochachka, P.W. (Ed.), *The Mollusca, Environmental Biochemistry and Physiology*, vol. 2. Academic Press, New York, pp. 165-217.
- Galarneau, E. (2008). Source specificity and atmospheric processing of airborne PAHs: implications for source apportionment. *Atmospheric Environment*, 42(35), 8139-8149.
- Gaspare, L., Machiwa, J. F., Mdachi, S. J. M., Streck, G. & Brack, W. (2009). Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) contamination of surface sediments and oysters from the inter-tidal areas of Dar es Salaam, Tanzania. *Environmental Pollution*, 157(1), 24-34.
- Gayoso, A.M. (1998). Long-term phytoplankton studies in the Bahía Blanca Estuary, Argentina. *ICES Journal of Marine Science*, 55, 655-660.
- Gayoso, A.M. (1999). Seasonal succession patterns of phytoplankton in the Bahía Blanca Estuary (Argentina). *Botanica Marina*, 42(4), 367–375.
- GESAMP (2011). Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection). Rep. Thirty-eighth session of GESAMP, Monaco. Rep.

- Studies GESAMP N°85, p. 118.
- Gil, M. N., Torres, A. I., Commendatore, M. G., Marinho, C., Arias, A., Giarratano, E. & Casas, G. N. (2015). Nutritive and Xenobiotic Compounds in the Alien Algae *Undaria pinnatifida* from Argentine Patagonia. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 68(3), 553-565.
- Goldberg, E. D. (1975). The mussel watch—A first step in global marine monitoring. *Marine Pollution Bulletin*, 6(7), 111.
- Goldberg, E. D., Bowen, V. T., Farrington, J. W., Harvey, G., Martin, J. H., Parker, P. L., Risebrough, R. W., Robertson, W., Schneider, E. & Gamble, E. (1978). The mussel watch. *Environmental conservation*, 5(02), 101-125.
- Golobočanin, D. D., Škrbić, B. D. & Miljević, N. R. (2004). Principal component analysis for soil contamination with PAHs. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 72(2), 219-223.
- González-Fernández, C., Albentosa, M., Campillo, J. A., Viñas, L., Fumega, J., Franco, A., Besada, V., González-Quijano, A. & Bellas, J. (2015). Influence of mussel biological variability on pollution biomarkers. *Environmental research*, 137, 14-31.
- Gu, Y. G., Lin, Q., Lu, T. T., Ke, C. L., Sun, R. X. & Du, F. Y. (2013). Levels, composition profiles and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments from Nan'ao Island, a representative mariculture base in South China. *Marine pollution bulletin*, 75(1), 310-316.
- Guinan, J., Charlesworth, M., Service, M. & Oliver, T. (2001). Sources and geochemical constraints of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sediments and mussels of two Northern Irish Sea-loughs. *Marine pollution bulletin*, 42(11), 1073-1081.
- Guinder, V. A., Popovich, C. A., Molinero, J. C. & Perillo, G. M. (2010). Long-term changes in phytoplankton phenology and community structure in the Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Marine biology*, 157(12), 2703-2716.

- Guinder, V.A., Molinero, J.C., Popovich, C.A., Marcovecchio, J.E. & Sommer, U. (2012). Dominance of the planktonic diatom *Thalassiosira minima* in recent summers in the Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Journal of Plankton Research*, 34 (11), 995-1000.
- Guinder, V. A., Popovich, C. A., Molinero, J. C. & Marcovecchio, J. (2013). Phytoplankton summer bloom dynamics in the Bahía Blanca Estuary in relation to changing environmental conditions. *Continental Shelf Research*, 52, 150-158.
- Guitart, C., Garcia-Flor, N., Bayona, J. M. & Albaiges, J. (2007). Occurrence and fate of polycyclic aromatic hydrocarbons in the coastal surface microlayer. *Marine pollution bulletin*, 54(2), 186-194.
- Guzzella, L., Roscioli, C., Viganò, L., Saha, M., Sarkar, S. K. & Bhattacharya, A. (2005). Evaluation of the concentration of HCH, DDT, HCB, PCB and PAH in the sediments along the lower stretch of Hugli estuary, West Bengal, northeast India. *Environment International*, 31(4), 523-534.
- Hartmann, P. C., Quinn, J. G., Cairns, R. W. & King, J. W. (2004). The distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in Narragansett Bay surface sediments. *Marine Pollution Bulletin*, 48(3), 351-358.
- He, X., Pang, Y., Song, X., Chen, B., Feng, Z. & Ma, Y. (2014). Distribution, sources and ecological risk assessment of PAHs in surface sediments from Guan River Estuary, China. *Marine Pollution Bulletin*, 80, 52-58.
- Hites, R. A., Laflamme, R. E., Windsor, J. G., Farrington, J. W. & Deuser, W. G. (1980). Polycyclic aromatic hydrocarbons in an anoxic sediment core from the Pettaquamscutt River (Rhode Island, USA). *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 44(6), 873-878.
- Huang, W., Wang, Z. & Yan, W. (2012). Distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sediments from Zhanjiang Bay and Leizhou Bay, South China. *Marine pollution bulletin*, 64(9), 1962-1969.
- Hui, Y., Zheng, M., Liu, Z. & Gao, L. (2009). Distribution of polycyclic aromatic

- hydrocarbons in sediments from Yellow River Estuary and Yangtze River Estuary, China. *Journal of Environmental Sciences*. 21 (12),1625–1631.
- IARC (2002). International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to humans. Some traditional herbal medicines, some micotoxins, naphthalene and styrene, Vol. 82. <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol82/mono82.pdf>.
- IARC (2010). International Agency for Research on Cancer. Some Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Some Related Exposures, Vol 92. <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol92/mono92.pdf>.
- INDEC (2010). Instituto Nacional de Estadística y Censos. <http://www.sig.indec.gov.ar/censo2010/>.
- IRIS (2008). Integrated risk information system. A-Z list of substances. <http://www.epa.gov/iris/subs.htm>.
- Isobe, T., Takada, H., Kanai, M., Tsutsumi, S., Isobe, K. O., Boonyatumanond, R. & Zakaria, M. P. (2007). Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and phenolic endocrine disrupting chemicals in South and Southeast Asian mussels. *Environmental Monitoring and Assessment*, 135(1-3), 423-440.
- Jiao, W., Wang, T., Khim, J. S., Luo, W., Hu, W., Naile, J. E., Giesy, J. P. & Lu, Y. (2012). PAHs in surface sediments from coastal and estuarine areas of the northern Bohai and Yellow Seas, China. *Environmental geochemistry and health*, 34(4), 445-456.
- Johnson-Restrepo, B., Olivero-Verbel, J., Lu, S., Guette-Fernández, J., Baldiris-Avila, R., O'Byrne-Hoyos, I., Aldous, M. K., Addink, R. & Kannan, K. (2008). Polycyclic aromatic hydrocarbons and their hydroxylated metabolites in fish bile and sediments from coastal waters of Colombia. *Environmental Pollution*, 151(3), 452-459.
- Kannan, K. & Perrotta, E. (2008). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in livers of California sea otters. *Chemosphere*, 71(4), 649-655.
-

- Karacik, B., Okay, O.S., Henkelmann, B., Bernhöft, S. & Schramm, K.-W. (2009). Polycyclic aromatic hydrocarbons and effects on marine organisms in the Istanbul Strait. *Environment International*, 35(3), 599–606.
- Katsoyiannis, A. (2006). Occurrence of polychlorinated biphenyls (PCBs) in the Soulou stream in the power generation area of Eordea, northwestern Greece. *Chemosphere*, 65(9), 1551-1561.
- Keshavarzifard, M., Zakaria, M. P., Hwai, T. S., Mustafa, S., Vaezzadeh, V., Magam, S. M., Masood, N., Alkhadher, S. A. A. & Abootalebi-Jahromi, F. (2014). Baseline distributions and sources of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in the surface sediments from the Prai and Malacca Rivers, Peninsular Malaysia. *Marine pollution bulletin*, 88(1), 366-372.
- Khairy, M. A., Kolb, M., Mostafa, A. R., Anwar, E. F. & Bahadir, M. (2009). Risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in a Mediterranean semi-enclosed basin affected by human activities (Abu Qir Bay, Egypt). *Journal of hazardous materials*, 170(1), 389-397.
- Kim, G. B., Maruya, K. A., Lee, R. F., Lee, J. H., Koh, C. H. & Tanabe, S. (1999). Distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments from Kyeonggi Bay, Korea. *Marine Pollution Bulletin*, 38(1), 7-15.
- Knezovich, J. P., Harrison, F. L. & Wilhelm, R. G. (1987). The bioavailability of sediment-sorbed organic chemicals: a review. *Water, Air, and Soil Pollution*, 32(1-2), 233-245.
- Kovács, A., Vasas, A. & Hohmann, J. (2008). Natural phenanthrenes and their biological activity. *Phytochemistry*, 69(5), 1084-1110.
- Larsen, R. K. & Baker, J. E. (2003). Source apportionment of polycyclic aromatic hydrocarbons in the urban atmosphere: a comparison of three methods. *Environmental Science & Technology*, 37(9), 1873-1881.
- Latimer, J. S. & Zheng, J. (2003). Sources, transport and fate of PAHs in the Marine Environment. En: Douben, P.E.T. (Ed.), *PAHs: An Ecotoxicological Perspective*.

- John Wiley & Sons, Chichester, pp. 9–35.
- Lipiatou E. & Saliot A. (1991). Fluxes and transport of anthropogenic and natural polycyclic aromatic hydrocarbons in the western Mediterranean Sea. *Marine Chemistry*, 32, 51-71.
- Livingstone, D. R. (1991). Towards a specific index of impact by organic pollution for marine invertebrates. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, 100(1), 151-155.
- Long, E. R., MacDonald, D. D., Smith, S. L. & Calder, F. D. (1995). Incidence of adverse biological effects within ranges of chemical concentrations in marine and estuarine sediments. *Environmental management*, 19(1), 81-97.
- Long, E.R, Ingersoll, C.G. & MacDonald, D.D. (2006). Calculation and uses of mean sediment quality guideline quotients: a critical review. *Environmental science & technology*, 40 (6), 1726–1736.
- Lopez-Abatte, M.C. (2014). Espectro trófico y consumo del microzooplancton en dos áreas con diferente presión antrópica del interior del Estuario de Bahía Blanca, Argentina, Tesis Doctoral, Universidad Nacional del Sur, Bahía blanca, Argentina, pp 10.
- Luo, X., Mai, B., Yang, Q., Fu, J., Sheng, G. & Wang, Z. (2004). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and organochlorine pesticides in water columns from the Pearl River and the Macao harbor in the Pearl River Delta in South China. *Marine Pollution Bulletin*, 48(11), 1102-1115.
- Magi, E., Bianco, R., Ianni, C. & Di Carro, M. (2002). Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in the sediments of the Adriatic Sea. *Environmental pollution*, 119(1), 91-98.
- Maioli, O.L.G, Rodrigues, K.C, Knoppers, B.A. & Azevedo, D.A. (2010). Polycyclic aromatic and aliphatic hydrocarbons in *Mytella charruana*, a bivalve mollusk from Mundaú Lagoon, Brazil. *Microchemical Journal*, 96(1), 172–179.

- Malcolm, H. M. & Shore, R. F. (2003). Freshwater Birds, Mammals and Amphibians. En: Douben P.E.T. PAHs: an ecotoxicological perspective, John Wiley & Sons, Chichester, pp. 225-242.
- Maldonado, C., Bayona, J. M. & Bodineau, L. (1999). Sources, distribution, and water column processes of aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons in the northwestern Black Sea water. *Environmental science & technology*, 33(16), 2693-2702.
- Malik, A., Ojha, P. & Singh, K. P. (2008). Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible fish from Gomti River, India. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 80(2), 134-138.
- Marcovecchio, J. & Ferrer, L. (2005). Distribution and geochemical partitioning of heavy metals in sediments of the Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Journal of Coastal Research*, 826-834.
- Marcovecchio, J.E., Botté, S.E., Delucchi, F., Arias, A., Fernández Severini, M., De Marco, S., Tombesi, N., Andrade, S., Ferrer, L. & Freije, R.H. (2008). Pollution processes in Bahía Blanca estuarine environment. En: Neves, R., Baretta, J.W. y Mateus, M. (eds.). *Perspectives on integrated coastal zone management in South America*. IST Press. Scientific Publishers, Lisboa, Portugal, pp. 301-314.
- Marcovecchio, J.E, Freije, R.H. & Vazquez Botello, A. (2014a). En: Marcovecchio J.E. & Freije, H.R. (Eds), *Procesos Químicos en estuarios*. Editorial de la Universidad Tecnológica Nacional, Buenos Aires, pp. 13-18.
- Marcovecchio, J.E, Freije R.H., Botté, S., Spetter, C. Arias, A., Fernández Severini, M., Buzzi, N., De Marco, S., Negrin, V., Simonetti, P., Guinder, V., Popovich, C. & Pereyra, M. (2014b). Programas de monitoreo en estuarios: estudios a largo plazo. En: Marcovecchio J.E. & Freije, H.R. (Eds), *Procesos Químicos en estuarios*. Editorial de la Universidad Tecnológica Nacional, Buenos Aires, pp. 415-432.
- Martínez-Lladó, X., Gibert, O., Martí, V., Diez, S., Romo, J., Bayona, J. M. & de

- Pablo, J. (2007). Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and tributyltin (TBT) in Barcelona harbour sediments and their impact on benthic communities. *Environmental Pollution*, 149(1), 104-113.
- Massara Paletto, V., Commendatore, M.G. & Esteves, J.L. (2008). Hydrocarbon levels in sediments and bivalve mollusks from Bahía Nueva (Patagonia, Argentina): An assessment of probable origin and bioaccumulation factors. *Marine Pollution Bulletin*. 56 (12), 2082–2105.
- Meador, J. P., Stein, J. E., Reichert, W. L. & Varanasi, U. (1995). Ware G.W. (Eds). Bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons by marine organisms. *Reviews of environmental contamination and toxicology* New York, Springer, pp. 79-165.
- Medeiros, P.M., Bicego, M.C., Castelao, R.M., Del Rosso, C., Fillmann, G. & Zamboni, A.J. (2005). Natural and anthropogenic hydrocarbon inputs to sediments of Patos Lagoon Estuary, Brazil. *Environment International*, 31(1), 77-87.
- Miles, C. J. & Delfino, J. J. (1999). Priority pollutant polycyclic aromatic hydrocarbons in Florida sediments. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 63(2), 226-234.
- Muniz, P., Danulat, E., Yannicelli, B., Garcí, J., Medina, G. & BÍ, M. C. (2004). Assessment of contamination by heavy metals and petroleum hydrocarbons in sediments of Montevideo Harbour (Uruguay). *Environment International*, 29(8), 1019-1028.
- Muniz, P. & Lana, P. D. C. (2013). Un manual de protocolos para evaluar la contaminación marina por efluentes domésticos.
- Murray, A. P., Richardson, B. J. & Gibbs, C. F. (1991). Bioconcentration factors for petroleum hydrocarbons, PAHs, LABs and biogenic hydrocarbons in the blue mussel. *Marine Pollution Bulletin*, 22(12), 595-603.
- Nahrgang, J., Brooks, S. J., Evenset, A., Camus, L., Jonsson, M., Smith, T. J.,

- Lukina, J., Frantzen, M., Giarratano, E. & Renaul, P. E. (2013). Seasonal variation in biomarkers in blue mussel (*Mytilus edulis*), Icelandic scallop (*Chlamys islandica*) and Atlantic cod (*Gadus morhua*)—Implications for environmental monitoring in the Barents Sea. *Aquatic toxicology*, 127, 21-35.
- Nakata, H., Uehara, K., Goto, Y., Fukumura, M., Shimasaki, H., Takikawa, K. & Miyawaki, T. (2014). Polycyclic aromatic hydrocarbons in oysters and sediments from the Yatsushiro Sea, Japan: Comparison of potential risks among PAHs, dioxins and dioxin-like compounds in benthic organisms. *Ecotoxicology and environmental safety*, 99, 61-68.
- Namiesnik, J., Moncheva, S., Park, Y. S., Ham, K. S., Heo, B. G., Tashma, Z., Katrich, E. & Gorinstein, S. (2008). Concentration of bioactive compounds in mussels *Mytilus galloprovincialis* as an indicator of pollution. *Chemosphere*, 73(6), 938-944.
- Nisbet, I. C. & LaGoy, P. K. (1992). Toxic equivalency factors (TEFs) for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Regulatory toxicology and pharmacology*, 16(3), 290-300.
- Nugent, P. (1989). Ecología y biología de los mejillinares de *Brachydonates rodriguezii* (D'Orbigny, 1846), Lamy 1936 en el litoral bonaerense. Tesis doctoral, Universidad Nacional de la Plata, Argentina, pp. 179.
- O'Connor, T. P. (1998). Mussel Watch results from 1986 to 1996. *Marine Pollution Bulletin*, 37(1), 14-19.
- Oros, D. R. & Ross, J. R. (2005). Polycyclic aromatic hydrocarbons in bivalves from the San Francisco estuary: spatial distributions, temporal trends, and sources (1993–2001). *Marine Environmental Research*, 60(4), 466-488.
- Orbea, A., Ortiz-Zarragoitia, M., Solé, M., Porte, C. & Cajaraville, M.P. (2002). Antioxidant enzymes and peroxisome proliferation in relation to contaminant body burdens of PAHs and PCBs in bivalve molluscs, crabs and fish from the Urdaibai and Plentzia estuaries (Bay of Biscay). *Aquatic Toxicology*, 58(1), 75–98.
-

- Perillo, G. M. E. (1995). Definitions and Geomorphologic Classifications of Estuaries. En: Perillo, G. M. E. (Ed), *Geomorphology and Sedimentology of Estuaries. Developments in Sedimentology* 53, Elsevier Science: pp 17-47.
- Perillo, G. M. & Piccolo, M. C. (1991). Tidal response in the Bahía Blanca estuary, Argentina. *Journal of Coastal Research*, 437-449.
- Perillo G.M.E. & Piccolo, M.C. (1999). Geomorphologic and physical characteristics of the Bahía Blanca Estuary, Argentina. En: Perillo, G.M.E., Piccolo, M.C. y Quivira, P. (eds.). *Estuaries of South America: their geomorphology and dynamics. Environmental Science Series*, Springer-Verlag, Berlin, pp. 195-216.
- Perillo G.M.E. & Piccolo, M.C. (2014). Capítulo 3: Procesos físicos en estuarios. En: Marcovecchio J.E. & Freije H. R. (Eds), *Procesos Químicos en estuarios. Editorial de la Universidad Tecnológica Nacional*, Buenos Aires, pp. 61-98.
- Phillips, D. J. (1980). Quantitative aquatic biological indicators. Their Use to Monitor Trace Metal and Organochlorine Pollution. *Applied Science*, London, p. 356.
- Piccolo, M. C. & Perillo, G. M. (1990). Physical characteristics of the Bahía Blanca estuary (Argentina). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 31(3), 303-317.
- Piccolo, M.C. (2008). Climatological features of the Bahía Blanca Estuary. En: Neves, R., Baretta, J. y Mateus, M. (eds.), *Perspectives on Integrated Coastal Zone Management in South America*, IST Press, Lisboa, Portugal, pp. 231-239.
- Piccolo, M.C., Perillo, G.M.E. & Melo, W.D. (2008). The Bahía Blanca Estuary: an integrated overview of its geomorphology and dynamics. En: Neves, R., Baretta, J. y Mateus, M. (eds.), *Perspectives on Integrated Coastal Zone Management in South America*, IST Press, Lisboa, Portugal, pp. 219-229.
- Pietzsch, R., Patchineelam, S. R. & Torres, J. P. (2010). Polycyclic aromatic hydrocarbons in recent sediments from a subtropical estuary in Brazil. *Marine Chemistry*, 118(1), 56-66.
- Ponce-Vélez, G., Botello, A. V. & Díaz-González, G. (2006). Organic and inorganic

- pollutants in marine sediments from northern and southern continental shelf of the Gulf of Mexico. *International Journal of Environment and Pollution*, 26. Nos, 1/2/3, 295-311.
- Popovich, C. A. & Marcovecchio, J. E. (2008). Spatial and temporal variability of phytoplankton and environmental factors in a temperate estuary of South America (Atlantic coast, Argentina). *Continental Shelf Research*, 28(2), 236-244.
- Porte, C. & Albaiges, J. (1993). Bioaccumulation patterns of hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in bivalves, crustaceans, and fishes. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 26(3), 273-281.
- Prieto, A., Zuloaga, O., Usobiaga, A., Bartolomé, L., Fernández, L. A., Etxebarria, N., Ciprain, E. & Alonso, A. (2008). Levels and spatial distribution of inorganic and organic contaminants in sediments along the Bilbao estuary. *Marine pollution bulletin*, 56(12), 2094-2099.
- PNUMA (2007). Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. Informe anual del PNUMA 2007. http://www.unep.org/PDF/AnnualReport/2007/UNEP_AR_2007_SP.pdf.
- Pruell, R. J., Lake, J. L., Davis, W. R. & Quinn, J. G. (1986). Uptake and depuration of organic contaminants by blue mussels (*Mytilus edulis*) exposed to environmentally contaminated sediment. *Marine Biology*, 91(4), 497-507.
- Qiao, M., Wang, C., Huang, S., Wang, D. & Wang, Z. (2006). Composition, sources, and potential toxicological significance of PAHs in the surface sediments of the Meiliang Bay, Taihu Lake, China. *Environment international*, 32, 28–33.
- Ramdine, G., Fichet, D., Louis, M. & Lemoine, S. (2012). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in surface sediment and oysters (*Crassostrea rhizophorae*) from mangrove of Guadeloupe: Levels, bioavailability, and effects. *Ecotoxicology and environmental safety*, 79, 80-89.
- Rank, J. (2009). Intersex in *Littorina littorea* and DNA damage in *Mytilus edulis* as indicators of harbour pollution. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72(4),

1271–1277.

- Readman, J. W., Mantoura, R. F. C., Rhead, M. M. & Brown, L. (1982). Aquatic distribution and heterotrophic degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in the Tamar Estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 14(4), 369-389.
- Readman, J. W., Mantoura, R. F. & Rhead, M. M. (1984). The physico-chemical speciation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in aquatic systems. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 319(2), 126-131.
- Readman, J. W., Mantoura, R. F. C. & Rhead, M. M. (1987). A record of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) pollution obtained from accreting sediments of the Tamar estuary, UK: evidence for non-equilibrium behaviour of PAH. *Science of the Total Environment*, 66, 73-94.
- Ruiz, Y., Suarez, P., Alonso, A., Longo, E., Villaverde, A. & San Juan, F. (2011). Environmental quality of mussel farms in the Vigo estuary: pollution by PAHs, origin and effects on reproduction. *Environmental Pollution*, 159(1), 250-265.
- Sacchi, A., Mouneyrac, C., Bolognesi, C., Scitutto, A., Roggieri, P., Fusi, M., Beone, G. M. & Capri, E. (2013). Biomonitoring study of an estuarine coastal ecosystem, the Sacca di Goro lagoon, using *Ruditapes philippinarum* (Mollusca: Bivalvia). *Environmental Pollution*, 177, 82-89.
- Sanders, M., Sivertsen, S. & Scott, G. (2002). Origin and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in surficial sediments from the Savannah River. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 43(4), 438–48.
- Savinov, V. M., Savinova, T. N., Matishov, G. G., Dahle, S. & Næs, K. (2003). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and organochlorines (OCs) in bottom sediments of the Guba Pechenga, Barents Sea, Russia. *Science of the Total Environment*, 306(1), 39-56.
- Sericano, J. L., Wade, T. L., Jackson, T. J., Brooks, J. M., Tripp, B. W., Farrington, J. W., Mee, L. D., Readmann, J. W., Villeneuve, J.-P. & Goldberg, E. D. (1995).
-

- Trace organic contamination in the Americas: an overview of the US National Status & Trends and the International 'Mussel Watch' programmes. *Marine Pollution Bulletin*, 31(4), 214-225.
- Simcik, M. F., Eisenreich, S. J. & Lioy, P. J. (1999). Source apportionment and source/sink relationships of PAHs in the coastal atmosphere of Chicago and Lake Michigan. *Atmospheric Environment*, 33(30), 5071-5079.
- Simpson, C. D., Mosi, A. A., Cullen, W. R. & Reimer, K. J. (1996). Composition and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in surficial marine sediments from Kitimat Harbor, Canada. *Science of the Total Environment*, 181(3), 265-278.
- Sims, R. C. & Overcash, M. R. (1983). Fate of polynuclear aromatic compounds (PNAs) in soil-plant systems. En: *Residue reviews*. Springer New York, pp 1-68.
- Soclo, H. H., Garrigues, P. H. & Ewald, M. (2000). Origin of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in coastal marine sediments: case studies in Cotonou (Benin) and Aquitaine (France) areas. *Marine Pollution Bulletin*, 40(5), 387-396.
- Soriano, J.A., Viñas, L., Franco, M.A., González, J.J., Ortiz, L., Bayona, J.M. & Albaigés, J. (2006). Spatial and temporal trends of petroleum hydrocarbons in wild mussels from the Galician coast (NW Spain) affected by the Prestige oil spill. *Science of the Total Environment*, 370(1), 80–90.
- Soriano Sanz, J. A. (2009). Evaluación y seguimiento del contenido en hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) en mejillón silvestre de la costa de Galicia y Cantábrico, antes y después del vertido del B/T Prestige. Tesis doctoral, Universidad de La Coruña, La Coruña, España.
- Sprovieri M., Feo M.L., Prevedello L., Manta D., Sammartino S., Tamburrino S. & Marsella E. (2009). Heavy metals, polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in surface sediments of the Naples harbour (southern Italy). *Chemosphere*, 67, 998-1009.
- Sprung, M. (1993). *The other life: an account of present knowledge of the larval*
-

- phase of *Dreissena polymorpha*. En: Nalepa, T.F. & Schloesser, D.W. (eds), *Zebra Mussels: Biology, Impacts and Control*, Lewis Publishers, USA, pp. 39-54.
- Tanabe, S., Prudente, M. S., Kan-Atireklap, S. & Subramanian, A. (2000). Mussel watch: marine pollution monitoring of butyltins and organochlorines in coastal waters of Thailand, Philippines and India. *Ocean & Coastal Management*, 43(8), 819-839.
- Thorsen, W. A., Cope, W. G. & Shea, D. (2004). Bioavailability of PAHs: Effects of soot carbon and PAH source. *Environmental science & technology*, 38(7), 2029-2037.
- Tolosa, I., Mesa-Albernas, M. & Alonso-Hernandez, C. M. (2009). Inputs and sources of hydrocarbons in sediments from Cienfuegos bay, Cuba. *Marine Pollution Bulletin*, 58(11), 1624-1634.
- UNEP (1993). Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. UNEP/FAO/IOC/IAEA. Guidelines for monitoring chemical contaminants in the sea using marine organisms. Reference Methods For Marine Pollution Studies No. 6.
- US-EPA (1996). Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos. Soxhlet extraction, EPA **Method 3540**, Revision 3, US Government Printing Office, Washington, DC, USA.
- US-EPA (2007). Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS), EPA **Method 8270D**, Revision 4, United States Environmental Protection Agency, Ohio, PA 45268, 2007.
- Ünlü, S. & Alpar, B. (2006). Distribution and sources of hydrocarbons in surface sediments of Gemlik Bay (Marmara Sea, Turkey). *Chemosphere*, 64(5), 764-777.
- Valavanidis, A., Vlachogianni, T., Triantafillaki, S., Dassenakis, M., Androutsos, F. & Scoullou, M. (2008). Polycyclic aromatic hydrocarbons in surface seawater and in indigenous mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from coastal areas of the Saronikos Gulf (Greece). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 79(4), 733-739.
- Vallarino, E.A. (2002). La comunidad bentónica intermareal de *Brachidontes*

- rodriguezii* (D'Orb.) y su relación con el efluente cloacal de la ciudad de Mar del Plata (38°S). Tesis doctoral, Universidad Nacional de Mar del Plata, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Mar del Plata, Argentina pp. 142-143.
- Vane, C. H., Harrison, I. & Kim, A. W. (2007). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in sediments from the Mersey Estuary, UK. *Science of the Total Environment*, 374(1), 112-126.
- Varanasi, U., Stein, J.E. & Nishimoto, M., 1989. Biotransformation and disposition of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in fish. En: Varanasi, U. (Ed.), *Metabolism of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environment*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 94-149.
- Venkatesan, M. I. (1988). Occurrence and possible sources of perylene in marine sediments-a review. *Marine Chemistry*, 25(1), 1-27.
- Viguri J., Verde, J. & Irabien A. (2002). Environmental assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in surface sediments of the Santander Bay, Northern Spain. *Chemosphere* 48, 157-165.
- Villanueva, S. & Vazquez Botello, A. (2014). Bioindicadores de contaminación (moluscos-bivalvos). *Procesos Químicos en estuarios*. Marcovecchio & Freije (Eds). Editorial de la Universidad Tecnológica Nacional, Buenos Aires, pp 377-388.
- Vidal-Liñán, L., Bellas, J., Campillo, J.A. & Beiras R. (2010). Integrated use of antioxidant enzymes in mussels, *Mytilus galloprovincialis*, for monitoring pollution in highly productive coastal areas of Galicia (NW Spain). *Chemosphere*, 78(3), 265-272.
- Viñas, L., Franco, A., Blanco, X., Bargiela, J., Soriano, J. A., Perez-Fernandez, B. & Gonzalez, J. J. (2012). Temporal and spatial changes of PAH concentrations in *Mytilus galloprovincialis* from Ria de Vigo (NW Spain). *Environmental Science and Pollution Research*, 19(2), 529-539.
- Vollhardt, K. & Schore, N., (2007), *Organic Chemistry: structure and function*, 5°

- edición, Editorial W.H. Freeman and Company, New York, Estados Unidos, pp. 679-685.
- Wang, Z., Liu, Z., Xu, K., Mayer, L. M., Zhang, Z., Kolker, A. S. & Wu, W. (2014). Concentrations and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface coastal sediments of the northern Gulf of Mexico. *Geochemical transactions*, 15(1), 2.
- World Health Organization. (1974). Health aspects of environmental pollution control: planning and implementation of national programmes, report of a WHO expert committee. Ginebra, 16-22 Octubre de 1973.
- Wilcke, W., Amelung, W., Krauss, M., Martius, C., Bandeira, A. & Garcia, M. (2003). Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) patterns in climatically different ecological zones of Brazil. *Organic Geochemistry*, 34(10), 1405-1417.
- Yan, W., Chi, J. S., Wang, Z.Y., Huang, W.X. & Zhang, G. (2009). Spatial and temporal distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sediments from Daya Bay, South China. *Environmental Pollution*, 157(6), 1823–1830.
- Yim, U. H., Hong, S. H., Shim, W. J., Oh, J. R. & Chang, M. (2005). Spatio temporal distribution and characteristics of PAHs in sediments from Masan Bay, Korea. *Marine Pollution Bulletin*, 50(3), 319-326.
- Yoshimine, R. V., Carreira, R. S., Scofield, A. L. & Wagener, A. L. R. (2012). Regional assessment of PAHs contamination in SE Brazil using brown mussels (*Perna perna* Linnaeus 1758). *Marine Pollution Bulletin*, 64(11), 2581–2587.
- Yuam, D. X., Yang, D. N., Terry, L., Wade, I. & Qian, Y. R. (2001). Status of persistent organic pollutants in the sediment from several estuaries in China. *Environmental Pollution*, 114 (1), 101–111.
- Yunker, M. B., Macdonald, R. W., Goyette, D., Paton, D. W., Fowler, B. R., Sullivan, D. & Boyd, J. (1999). Natural and anthropogenic inputs of hydrocarbons to the Strait of Georgia. *The Science of the Total Environment*, 225(3), 181–209.
- Yunker, M. B., Macdonald, R. W., Vingarzan, R., Mitchell, R. H., Goyette, D. &

- Sylvestre, S. (2002). PAHs in the Fraser River basin: A critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. *Organic Geochemistry*, 33(4), 489–515.
- Zhang, J., Cai, L., Yuan, D. & Chen, M. (2004). Distribution and sources of polynuclear aromatic hydrocarbons in Mangrove surficial sediments of Deep Bay, China. *Marine Pollution Bulletin*, 49(5), 479-486.
- Zhang, W., Zhang, S., Wan, C., Yue, D., Ye, Y. & Wang, X. (2008). Source diagnostics of polycyclic aromatic hydrocarbons in urban road runoff, dust, rain and canopy throughfall. *Environmental Pollution*, 153(3), 594-601.
- Zhang, T., Yang, W. L., Chen, S. J., Shi, D. L., Zhao, H., Ding, Y., Huang, Y. R., Li, N.m Ren, Y. & Mai, B. X. (2014). Occurrence, sources, and ecological risks of PBDEs, PCBs, OCPs, and PAHs in surface sediments of the Yangtze River Delta city cluster, China. *Environmental monitoring and assessment*, 186(8), 5285-5295.
- Zhao, Z., Zhang, L., Cai, Y. & Chen, Y. (2014). Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) residues in several tissues of edible fishes from the largest freshwater lake in China, Poyang Lake, and associated human health risk assessment. *Ecotoxicology and environmental safety*, 104, 323-331.
- Zhou, J. L., Hong, H., Zhang, Z., Maskaoui, K. & Chen, W. (2000). Multi-phase distribution of organic micropollutants in Xiamen Harbour, China. *Water Research*, 34(7), 2132-2150.
- Zhou, J. L. & Maskaoui, K. (2003). Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in water and surface sediments from Daya Bay, China. *Environmental Pollution*, 121(2), 269-281.

PUBLICACIONES CIENTÍFICAS:

En revistas indexadas:

- **Ana L. Oliva**, Pamela Y. Quintas, Noelia S. La Colla, Andrés H. Arias, Jorge E. Marcovecchio (2015). *Distribution, Sources, and Potential Ecotoxicological Risk of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Surface Sediments from Bahía Blanca Estuary, Argentina*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 69(2), 163-172.
- **Ana L. Oliva**, Julien Ovaert, Andrés H. Arias, Sami Souissi, Jorge E. Marcovecchio (2015). *Mussels as bioindicators of PAHs pollution within Argentinean coastal environments, South America*. International Journal of Environmental Research, 9(4), 1293-1304.

Capítulos de libro:

- Andrés H. Arias, **Ana L. Oliva**, Alfonso Vasquez-Botelo, Guadalupe Ponce-Vélez, Matías Tártara, (2014). *Compuestos orgánicos persistentes en sistemas costeros bajo presión antrópica: principales grupos, tendencias de monitoreo y compuestos emergentes*. En: **Procesos Químicos en Estuarios**, JE Marcovecchio & RH Freije. (ed.) Editorial de la Universidad Tecnológica Nacional EdiUTecNe, Buenos Aires (Argentina). pp. 289 – 318; ISBN: 978 987 1869-1-4.

Presentaciones en reuniones Científicas:

- **Ana L. Oliva**, Andrés H. Arias, Pamela Y. Quintas, Jorge E. Marcovecchio. *Empleo de moluscos bivalvos como indicadores de la contaminación por hidrocarburos en ambientes costeros*. Primeras Jornadas Bonarenses de Conservación de ambientes y patrimonio Costero, del 1-3 de Octubre del 2015, Monte Hermoso, Argentina. Tipo de presentación: Póster
- **Ana L. Oliva**, Pamela Y. Quintas, Andrés H. Arias, Jorge E. Marcovecchio. *Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en sedimentos superficiales del Estuario de Bahía Blanca: origen, composición y variación estacional*. III Reunión Argentina de Geoquímica de la Superficie, del 2 al 5 de Diciembre del 2014, Mar del Plata, Argentina. Tipo de presentación: Póster

- **Ana L. Oliva**, Pamela Y. Quintas, Andrés H. Arias, Jorge E. Marcovecchio. *Variación Estacional de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en el Estuario de Bahía Blanca, Argentina*. XV Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar 2013– Colacmar, del 27 al 31 de Octubre de 2013, Punta del Este, Uruguay. Tipo de presentación: Póster
- Julien Ovaert, **Ana L. Oliva**, Pamela Y. Quintas, Andrés H. Arias, Jorge E. Marcovecchio. *Brachidontes rodriguezii population assessment as a pollution bioindicator in estuarine environments*. Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar 2013– Colacmar, del 27 al 31 de Octubre de 2013, Punta del Este, Uruguay. Tipo de presentación: Póster
- **Ana L. Oliva**, Andrés H. Arias, Jorge E. Marcovecchio. *Evidencia del impacto antrópico mediante el estudio de los niveles de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en sedimentos superficiales del estuario de Bahía Blanca*. VIII jornadas Nacionales de Ciencias del Mar XVI Coloquio de Oceanografía, 3al 7 de Diciembre de 2012, Comodoro Rivadavia, Argentina. Tipo de presentación: Póster
- **Ana L. Oliva**, Andrés H. Arias, Jorge E. Marcovecchio. *Compuestos Orgánicos Persistentes en el estuario de Bahía Blanca: análisis histórico y perspectivas*. II Reunión Argentina de Geoquímica de la Superficie, 23 al 27 de abril del 2012, Bahía Blanca, Argentina. Tipo de presentación: Póster