

Nota de Investigación/Research Note

Variación temporal de las concentraciones de PCBs en tejido de mejillón de dos zonas de la Bahía de Santander (España)

Temporal variation of PCB concentrations in mussel tissue in two areas of Santander Bay (Spain)

A González-Quijano*, A García, J Fumega, JJ González

Instituto Español de Oceanografía, Centro Oceanográfico de Vigo, Cabo Estai, Canido, 36280 Vigo, Spain.

* E-mail: amelia.glez-quijano@vi.ieo.es

Resumen

Se presenta la variación temporal de bifenilos policlorados (PCBs) en mejillón silvestre *Mytilus galloprovincialis* de dos zonas de la Bahía de Santander (norte de España) de 1991 a 2003, así como la posible influencia en sus concentraciones de los diferentes aportes externos a que están sometidas ambas zonas. Las concentraciones de SCB7 (suma de los CBs Nos. IUPAC: 28, 52, 101, 118, 138, 153 y 180) de la zona de Pantalán, oscilan entre los 21 $\mu\text{g kg}^{-1}$ en peso húmedo (ph) y los 38 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ph. Mientras que en la zona de Pedreña, con menor influencia antropogénica, varían entre un mínimo de 8 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ph y un máximo de 15 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ph. Para conocer la evolución temporal, se usa el coeficiente de correlación Tau-b de Kendall y se comprueba la existencia de una tendencia decreciente significativa en los niveles de PCBs en ambas zonas.

Palabras clave: PCBs, mejillón silvestre, *Mytilus galloprovincialis*, variación temporal, Bahía de Santander (España).

Abstract

An analysis was made of the temporal variation of polychlorinated biphenyls (PCBs) in wild mussel, *Mytilus galloprovincialis*, from two areas of Santander Bay (northern Spain) during 1991–2003, as well as of the possible influence of different external contributions on their concentrations. The concentrations of the sum of seven PCBs (IUPAC numbers 28, 52, 101, 118, 138, 153 and 180) from the Pantalán area ranged from 21 to 38 $\mu\text{g kg}^{-1}$ wet weight, whereas those from the Pedreña area, subject to less anthropogenic influence, ranged from 8 to 15 $\mu\text{g kg}^{-1}$ wet weight. To determine the temporal evolution, the Kendall Tau-b correlation coefficient was used and a decreasing trend in PCB levels was verified for both areas.

Key words: PCBs, wild mussel, *Mytilus galloprovincialis*, temporal variation, Santander Bay (Spain).

Introducción

Los bifenilos policlorados (PCBs) son compuestos organoclorados persistentes, bioacumulables y potencialmente tóxicos. Desde su identificación en el ambiente en 1966 (Jensen 1966) se consideran omnipresentes en los compartimentos ambientales. Son muy utilizados en la industria debido a sus propiedades fisicoquímicas, tanto en sistemas abiertos (pinturas, aceites lubricantes, etc.) como en sistemas cerrados (transformadores, condensadores, sistemas de calefacción, etc.).

La baja solubilidad de estos compuestos en el agua, alto carácter lipofílico y considerable resistencia a la degradación, son las causas de su bioacumulación y persistencia en los organismos marinos. Esto hace que determinados organismos sean buenos indicadores de la contaminación en el medio marino, pues las concentraciones que acumulan son de varios órdenes de magnitud superiores a las existentes en el agua en que habitan, lo que facilita su análisis y además proporciona una información integrada de la situación existente en la zona.

Introduction

Polychlorinated biphenyls (PCBs) are persistent, bioaccumulative and potentially toxic organochlorine compounds. They were first identified in the environment in 1966 (Jensen 1966) and are considered to be ubiquitous in all environmental compartments. They are widely used in industry owing to their physical and chemical properties, both in open systems (paints, lubricating oils, etc.) and in closed systems (transformers, condensers, heating systems, etc.).

The bioaccumulation and persistence of these compounds in marine organisms can be attributed to their low solubility in water, high lipophilic nature and considerable resistance to degradation. Certain organisms are therefore reliable indicators of contamination in the marine environment since the concentrations that they accumulate are several orders of magnitude higher than those present in the water that they inhabit. This facilitates the analysis of PCBs and, furthermore, provides integrated information on the current situation in the area.

As a bioindicator or sentinel of contamination by PCBs, the wild mussel, *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck 1819), is the

Como bioindicador o centinela de la contaminación por PCBs se utiliza el mejillón silvestre *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck 1819) debido a su amplia distribución geográfica, carácter sésil, elevado poder filtrador (aproximadamente de 2 a 4 L h⁻¹) (Potrykus *et al.* 2003) y gran capacidad de acumulación de este tipo de compuestos orgánicos, por lo que es de gran utilidad para conocer la contaminación existente en el área restringida en que habita, así como para estudios de tendencias temporales.

El estudio se realizó en dos zonas de la Bahía de Santander: Pantalán y Pedreña (fig. 1). Dicha bahía, con una extensión de unos 22,000 km², es la mayor de todas las existentes en la costa norte española. Sus excepcionales condiciones naturales han favorecido que sobre sus márgenes se hayan ido asentando y desarrollando un considerable número de núcleos de población, industrias, usos portuarios y de servicios, especialmente en su parte más interna.

Actualmente, se ha puesto en marcha un plan de regeneración de la bahía y también de recuperación marisquera, con una gran inversión en siembra de semillas de las dos especies autóctonas de almeja de mayor interés comercial: la almeja fina y la almeja babosa, por lo que es de gran importancia conocer su situación medioambiental.

Las dos zonas seleccionadas, a pesar de su proximidad (4 km), están sometidas a influencias antropogénicas muy diferentes: Pantalán está situada hacia el interior de la bahía, donde apenas existe renovación del agua y de donde proceden la mayor parte de los aportes de ríos, industrias, desguaces, astilleros, aguas residuales urbanas, etc., mientras que Pedreña se encuentra más alejada de estos aportes y situada en la parte más externa de la bahía, por lo que en esta última zona existe una dinámica y un efecto de dilución mayor.

Material y métodos

Los muestreos de mejillón se realizaron siempre en el mes de octubre, para evitar posibles fluctuaciones estacionales (Lee *et al.* 1996, González-Quijano *et al.* 1997). Una vez recolectados, se mantuvieron 24 h en el agua de la zona de recogida para eliminar las posibles heces o pseudoheces que contuvieran.

Con el objetivo de minimizar la variabilidad natural y siguiendo las directrices establecidas por OSPAR (1999), los mejillones se clasificaron en cinco clases de tallas, equidistantes logarítmicamente: 36–40 mm, 41–46 mm, 47–53 mm, 54–61 mm y 62–70 mm, conteniendo cada una de ellas 50 ejemplares como mínimo. Después de obtener sus datos biométricos individuales, los tejidos blandos se separaron de las conchas, se homogeneizaron con un Ultraturrax y se liofilizaron.

Las muestras se extrajeron en un aparato Soxhlet con una mezcla de disolventes de distinta polaridad (pentano-diclorometano); la purificación del extracto y separación de los CBs se llevó a cabo mediante columnas de alúmina y gel de sílice. La cuantificación se realizó por cromatografía de gases con columnas capilares y detector de captura electrónica (GC/ED),

most frequently used organism due to its wide geographic distribution, sessile character, high filtering capacity (approximately 2 to 4 L h⁻¹) (Potrykus *et al.* 2003) and considerable ability to accumulate this type of organic compound; hence, it is particularly useful for determining the contamination in the restricted area it inhabits and for temporal trend studies.

This study was conducted in two areas of Santander Bay: Pantalán and Pedreña (fig. 1). This bay, covering some 22,000 km², is the largest on the northern coast of Spain, and its special natural features have been conducive to the gradual settlement and development of a considerable number of populated areas, industries and port uses and facilities on its banks, especially in the innermost part.

A plan for the regeneration of Santander Bay has been implemented, which includes a shellfish harvest recovery program, involving considerable investment for sowing seeds of the two autochthonous clam species of highest commercial interest: the grooved carpet shell and pullet carpet shell. It is therefore important to determine its current environmental situation.

The two sampling areas selected, despite their proximity (4 km = 2.5 miles), are subject to very different anthropogenic influences. Pantalán is located in the inner part of the bay, where water renewal is low and where most of the sources are found: rivers, industries, scrapyards, urban wastewater outfalls, etc. Conversely, Pedreña is located farther from these inputs, in the outermost part of the bay, where the dynamics and dilution effects are greater.

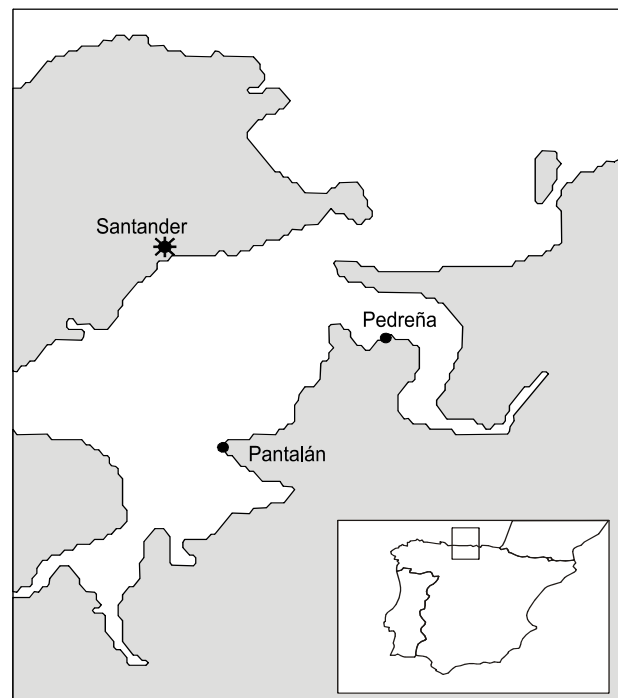


Figura 1. Puntos de muestreo en la Bahía de Santander, España.
Figure 1. Sampling sites in Santander Bay, Spain.

utilizando H₂ como gas portador y Ar/Me como gas auxiliar (de Boer 1988, González-Quijano y Fumega 1996).

La fiabilidad de los análisis se garantizó siguiendo un programa de control de calidad, mediante análisis de material de referencia certificado, blancos, replicados, y participando sistemáticamente en ejercicios de intercalibración internacionales, como QUASIMEME (QUASIMEME 2003) e IAEA (Villeneuve *et al.* 2004).

Resultados y discusión

En la figura 2 se presentan las concentraciones de SCB7, la suma de los siete congéneres individuales recomendados por ICES (1986) y OSPAR (1999), en mejillón de roca de Pantalán y Pedreña, de 1991 a 2003.

Las concentraciones de SCB7 obtenidas en el mejillón de la zona de Pantalán oscilaron entre 21 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ph (correspondientes a 1999 y 2003) y 35 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ph en 1991, con un promedio en los 13 años de 29 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ph; mientras que en Pedreña, se obtuvo un mínimo de 8 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ph para 1996 y 2003, y un máximo de 15 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ph en 1991, siendo su concentración media de 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ph (fig. 2). Es decir, aunque ambas zonas están muy próximas entre sí los niveles de SCB7 son muy diferentes, lo que refleja la influencia de los aportes externos en cada una de ellas, así como sus ubicaciones dentro de la bahía, tal como se ha indicado anteriormente.

De acuerdo con el criterio de clasificación de los niveles de SCB7 propuesto por Francia a la Comisión OSPAR (OSPAR 2004), Santander y Pantalán se considerarían con un nivel de contaminación moderado-alto y Pedreña con un nivel moderado.

Por otra parte, los criterios de evaluación ecotoxicológica (EACs, por sus siglas en inglés) son aquellas concentraciones que, de acuerdo al conocimiento científico existente, se aproximan a las que por debajo de las mismas el potencial de efectos adversos es mínimo. OSPAR ha adoptado EACs para la mayoría de los contaminantes más comunes en agua, sedimentos y biota (OSPAR 1997). El valor EAC para las concentraciones

Material and methods

Mussels are always sampled in October to avoid possible seasonal fluctuations (Lee *et al.* 1996, González-Quijano *et al.* 1997). Once collected, they were maintained for 24 h in the water collected from the area to eliminate any possible feces or pseudo-feces that they might contain.

In order to minimize natural variability and following the guidelines established by OSPAR (1999), the mussels were separated into five logarithmically-equidistant size classes: 36–40 mm, 41–46 mm, 47–53 mm, 54–61 mm and 62–70 mm; each contained a minimum of 50 individuals. After obtaining their individual biometric data, the soft tissues were separated from the shells, homogenized with an Ultraturrax and liophilized.

The samples were Soxhlet extracted using a mixture of solvents of different polarity (pentane-dichloromethane). The extract was purified and the CBs were separated using alumina and silica gel columns. Quantification was conducted by gas chromatography with capillary columns and electron capture detector (GC/ECD), using H₂ as carrier gas and Ar/Me as auxiliary gas (de Boer 1988, González-Quijano and Fumega 1996).

The reliability of the results is ensured by following a quality control programme based on the analysis of certified reference material, procedural blanks and replicates, and by systematically taking part in international intercomparison exercises, such as QUASIMEME (QUASIMEME 2003) and IAEA (Villeneuve *et al.* 2004).

Results and discussion

Figure 2 shows the concentrations of the sum of the seven individual CB congeners (SCB7) recommended by ICES (1986) and OSPAR (1999), in wild mussels from Pantalán and Pedreña, for the period from 1991 to 2003.

The SCB7 concentrations obtained for the Pantalán mussel samples ranged between 21 $\mu\text{g kg}^{-1}$ wet weight (corresponding to 1999 and 2003) and 35 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ww (1991), with a mean value of 29 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ww for the 13 years, while those for Pedreña ranged between 8 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ww (1996 and 2003) and 15 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ww (1991), with a mean value of 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ww (fig. 2). Although both sites are very close to each other, the levels of SCB7 differ considerably, indicating the influence of the external inputs to which Pantalán is subject and the different characteristics of the two areas studied.

According to the classification criterion for the levels of SCB7, proposed by France to the OSPAR Commission (OSPAR 2004), the Pantalán area in Santander would be considered to have a moderate to high level of contamination, while Pedreña would have a moderate level.

On the other hand, the Ecotoxicological Assessment Criteria (EACs) define concentrations, based on current scientific knowledge, below which the potential for adverse effects is minimum. The OSPAR Commission has adopted EACs for the most common pollutants in water, sediments and biota

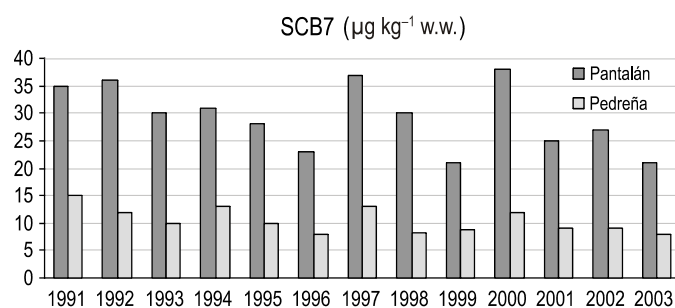


Figura 2. Concentraciones de SCB7 en tejido de mejillón *Mytilus galloprovincialis* de 1991 a 2003.

Figure 2. Concentrations of the sum of seven CBs (SCB7, IUPAC numbers 28, 52, 101, 118, 138, 153 and 180) in mussel *Mytilus galloprovincialis* tissue for the period 1991–2003.

de SCB7 en mejillón es de $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ ph. De acuerdo con este criterio, el promedio obtenido en Pantalán es aproximadamente el triple del EAC, mientras que el de Pedreña es muy cercano a él.

Se comprobó que la relación entre las concentraciones obtenidas de SCB7 de ambas zonas permanece prácticamente constante a lo largo de los años de estudio, siendo del orden de tres veces mayor en Pantalán que en Pedreña. Esto indica que, a pesar de la diferente influencia de los aportes observada sobre cada zona, la redistribución geográfica de los CBs entre ambos puntos se ha mantenido constante a lo largo del periodo estudiado.

A pesar de las diferencias, las aportaciones de cada CB a la suma de los siete (SCB7) son prácticamente iguales en las dos zonas (fig. 3). Como en otros estudios realizados en mejillón (Villeneuve *et al.* 1999, Green y Knutzen 2003) la mayor contribución a la suma SCB7 corresponde al CB153 (43%) seguida por el CB138 (30%), encontrándose estos congéneres entre los más persistentes pero menos tóxicos estudiados, mientras que el CB28 es el que menos aporta (1%).

Esta acumulación selectiva de isómeros penta y hexaclorobifenilos observada en el mejillón *M. galloprovincialis*, también ha sido encontrada en otros estudios realizados en la costa mediterránea y en el Mar Báltico (Porte y Albaigés 1994, Potrykus *et al.* 2003).

Finalmente, con el objetivo de estudiar si existe una tendencia temporal en los niveles de PCBs de ambas zonas a lo largo de los 13 años, se llevó a cabo un análisis estadístico utilizando el coeficiente de correlación Tau-b de Kendall, propuesto por Mann (Hollander y Wolfe 1999), para lo que se obtuvieron las medianas de las concentraciones para cada clase de talla, año y contaminante (fig. 4).

(OSPAR 1997), and the value for SCB7 concentrations in mussels is $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ ww. According to this, the mean value obtained for Pantalán is approximately three times the EAC value, whereas that recorded for Pedreña is very close to it.

Analysis of the data shows that the annual relationship between the SCB7 concentrations obtained for both areas remained practically constant throughout the years of study, being three times higher in Pantalán than in Pedreña. This indicates that, in spite of the different influence exerted by anthropogenic inputs at each site, the geographical redistribution of the CBs in the area between them remained constant during the whole period.

Despite the differences, the contributions of each CB to the sum of the seven (SCB7) are practically the same in both areas (fig. 3). As in other studies conducted on mussels (Villeneuve *et al.* 1999, Green and Knutzen 2003), the largest contribution to SCB7 came from CB153 (43%), followed by CB138 (30%); these congeners are among the most persistent but least toxic studied. The lowest contribution (1%) corresponded to CB28.

This selective build-up of penta- and hexa-chlorobiphenyls observed in *M. galloprovincialis* has also been found in other studies conducted on the Mediterranean coast and in the Baltic Sea (Porte and Albaigés 1994, Potrykus *et al.* 2003).

Finally, in order to determine if there was a temporal trend in the levels of PCBs in both areas over a 13-year period, a statistical analysis was performed using the Kendall Tau-b correlation coefficient, as proposed by Mann (Hollander and Wolfe 1999). Medians of the concentrations were obtained for each size class, year and pollutant (fig. 4).

This method is recommended by the ICES Working Group on Statistical Aspects of Environmental Monitoring

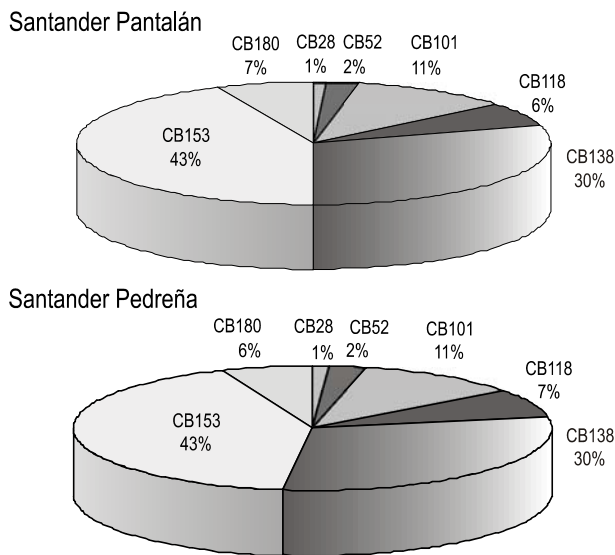


Figura 3. Contribución de cada CB a la suma SCB7.
Figure 3. Contribution of each CB to the sum of seven individual CB congeners (SCB7).

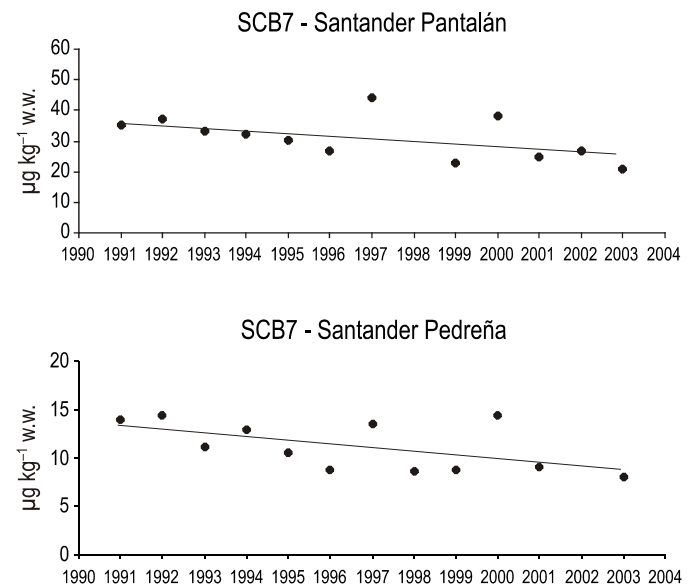


Figura 4. Tendencias temporales, de acuerdo al test de Mann- Kendall.
Figure 4. Temporal trends according to the Mann-Kendall test.

Este método ha sido aconsejado por el ICES *Working Group on Statistical Aspects of Environmental Monitoring* (ICES 1996, Swertz 1996), y está basado en el test de Mann-Kendall que es el método más simple y robusto para detectar tendencias.

Se calculó el coeficiente de correlación de Kendall y la U estadística de Mann-Kendall. Esta U estadística se verificó para determinar si difería significativamente de cero. De ser, se puede concluir que existe una tendencia decreciente.

En los dos casos presentados en este trabajo, los coeficientes Tau-b resultaron negativos: -0.487 en Pantalán y -0.416 en Pedreña, con un nivel de significancia de 0.010 y 0.025, respectivamente ($P < 0.05$), lo que demuestra una tendencia estadísticamente significativa decreciente, en ambos casos, durante el periodo estudiado (1991–2003).

Agradecimientos

Nuestro agradecimiento a Bruno Cambeiro, así como al personal del equipo de Contaminación del Centro Oceanográfico de Vigo que ha colaborado en la recogida y tratamiento de las muestras. También se agradece a T Nunes por su colaboración en la traducción del texto.

Referencias

De Boer J. 1988. Trends in chlorobiphenyl contents in livers of Atlantic cod (*Gadus morhua*) from the North Sea. *Chemosphere* 17(9): 1811–1819.

González-Quijano A, Fumega J. 1996. Determinación de congéneres individuales de bifenilos policlorados en organismos marinos. *Inf. Téc. Inst. Esp. Oceanogr.* 160: 27 pp.

González-Quijano A, Fumega J, García A. 1997. Cuantificación y variación anual de congéneres individuales de bifenilos policlorados (CBs), en mejillón de roca de la ría de Vigo. En: Prego R, Fernández JM (eds.), *Procesos Biogeoquímicos en Sistemas Costeros Hispano-lusos*. pp. 147–151.

Green NW, Knutzen J. 2003. Organohalogenes and metals in marine fish and mussels and some relationships to biological variables at reference localities in Norway. *Mar. Pollut. Bull.* 46: 362–377.

Hollander M, Wolfe DA. (1999). *Non-parametric Statistical Methods*. 2nd ed. John Wiley, New York, 787 pp.

ICES, Internacional Council for the Exploration of Seas. 1986. Interim reporting format for contaminants in fish and shellfish, JMP-vers. ICES, May 1986.

ICES, Internacional Council for the Exploration of Seas. 1996. Report of the Working Group on Statistical Aspects of Environmental Monitoring (WGSAEM), ICES CM 1996/D:1.

Jensen S. 1966. Report of a new chemical hazard. *New Sci.* 32: 612–615.

Lee KM, Kruse H, Wassermann O. 1996. Seasonal fluctuation of organochlorines in *Mytilus edulis* L. from the south-west Baltic sea. *Chemosphere* 32(10): 1883–1895.

OSPAR. 1997. Agreed ecotoxicological assessment criteria for metals, PCBs, PAHs, TBT and some organochlorine pesticides. OSPAR Commission, London. Meeting doc. OSPAR 97/15/1, Annex 6, 2 pp.

(WGSAEM) (ICES 1996, Swertz 1996), and is based on the Mann-Kendall test, which is the simplest and most robust method for detecting trends. The Kendall correlation coefficient and the Mann-Kendall U-statistic are calculated, and the latter is checked to determine if it differs significantly from zero. If that is the case, it may be concluded that there is a statistically significant decreasing trend.

In the two cases presented in this paper, the Tau-b coefficients obtained were negative: -0.487 for Pantalán and -0.416 for Pedreña, with a significance level of 0.010 and 0.025, respectively ($P < 0.05$). This corresponds to a statistically significant decreasing trend during the study period (1991–2003) in both cases.

Acknowledgements

We thank B Cambeiro and the Contamination Team at the Vigo Oceanographic Centre (Spain) for their collaboration in the collection and treatment of the samples. We are grateful to T Nunes for her help with the translation.

OSPAR (OSPAR Convention for the Protection of the Marine Environment of the North-East Atlantic). 1999. JAMP (Joint Assessment and Monitoring Programme) Guidelines for Monitoring Contaminants in Biota (vers. 1999-2), 51 pp.

OSPAR. 2004. Report of the OSPAR/ICES workshop on the evaluation and update of background reference concentrations (B/RCS) and ecotoxicological assessment criteria (EACs) and how these assessment tools should be used in assessing contaminants in water, sediment and biota. The Hague, 9–13 February 2004.

Porte C, Albaigés J. 1994. Bioaccumulation patterns of hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in bivalves, crustaceans and fishes. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 26: 273–281.

Potrykus J, Albalat A, Pempkowiak J, Porte C. 2003. Content and pattern of organic pollutants (PAHs, PCBs and DDT) in blue mussels (*Mytilus trossulus*) from the southern Baltic Sea. *Oceanologia* 45(1): 337–355.

QUASIMEME. 2003. QUASIMEME Laboratory performance studies. FRS. Marine Laboratory, PO Box 101, Victoria Road, Aberdeen AB9 8DB, Scotland. July to October 2003.

Swertz OC. 1996. Detectable trend: An aid for designing a monitoring Programme. Report of the Working Group on Statistical Aspects of Environmental Monitoring (WGSAEM), ICES CM 1996/D:1, Annex 7: 60–66.

Villeneuve J-P, Carvalho FP, Fowler SW, Cattini C. 1999. Levels and trends of PCBs, chlorinated pesticides and petroleum hydrocarbons in mussels from the NW Mediterranean coast: Comparison of concentrations in 1973/74 and 1988/1989. *Sci. Total Environ.* 237/238: 57–65.

Villeneuve J-P, de Mora SJ, Cattini C. 2004. Report on the world-wide and regional intercomparison for the determination of organochlorine compounds, and petroleum hydrocarbons in mussel tissue, IAEA-432. IAEA-MEL74. 137 pp.

*Recibido en abril de 2005;
aceptado en marzo de 2006.*