

Trabajo grupal realizado por: Ainhoa Fernández Ajenjo y Dayana Martínez Morillo

**NIVELES DE METALES Y ELEMENTOS TRAZA EN MOLUSCOS DEL DELTA DEL EBRO EN
FUNCIÓN DEL TIEMPO DE DEPURACIÓN. INGESTA Y RIESGOS PARA LA SALUD**

TRABAJO DE FIN DE GRADO

Dirigido por el Dr. Joaquim Rovira Solano

Grado de Nutrición Humana y Dietética



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

Reus

2024

RESUMEN

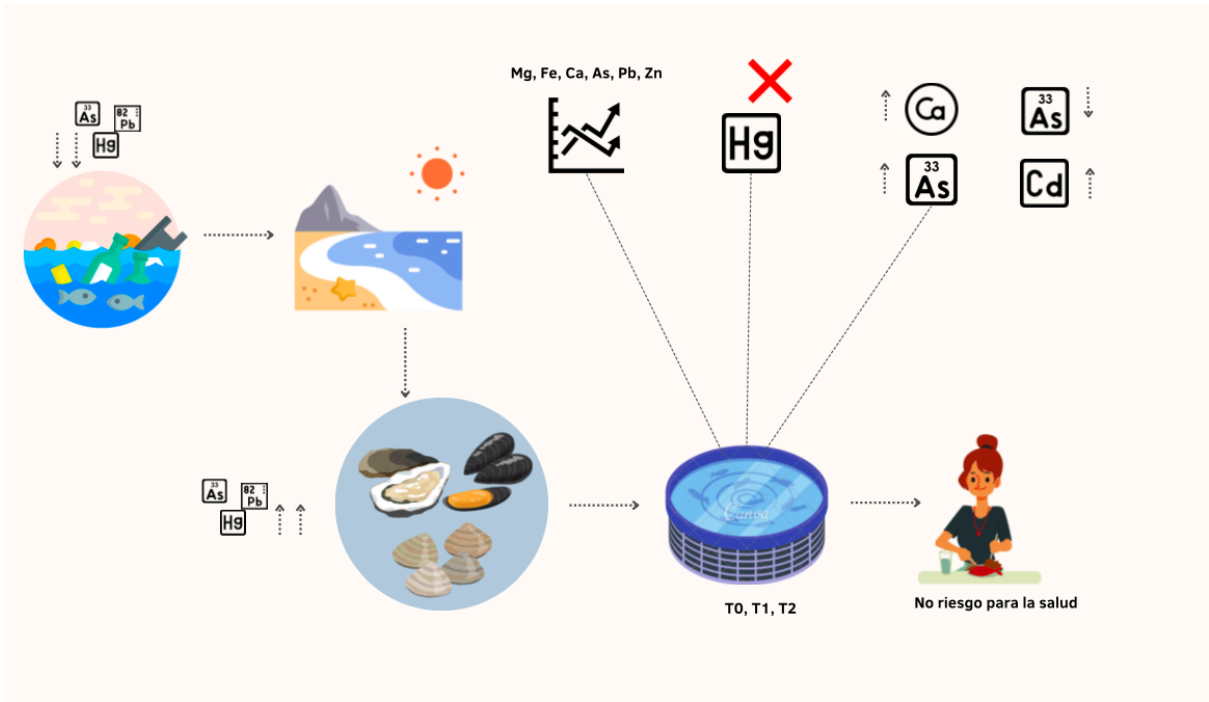
La contaminación marina por metales ha aumentado significativamente, impactando negativamente la biodiversidad y la salud de los ecosistemas. Los metales pesados como Hg, Pb, Cd provienen de la industria, la agricultura y la minería y se acumulan en los organismos marinos a través de bioacumulación y biomagnificación, causando toxicidad en la fauna y riesgos para los consumidores. En el Delta del Ebro el ecosistema marino juega un papel importante, filtrando y acumulando nutrientes y contaminantes del agua. Preservar estos ecosistemas garantiza su sostenibilidad ecológica y económica. En el presente estudio se analizaron moluscos depurados en diferentes tiempos. Los resultados mostraron variabilidad en la concentración de metales como el Mg y el Fe presentes en niveles significativos, mientras que otros como el Hg no fueron detectados. Se observó una correlación positiva entre As y Ca, y negativa entre As y Cd. Los moluscos tras un proceso adecuado de depuración presentaron concentraciones de metales dentro de los límites establecidos por la normativa europea y no representaron un riesgo significativo para la salud humana.

PALABRAS CLAVES: Moluscos, Mejillones, Ostras, Metales pesados, Depuración.

ABSTRACT

Marine metal pollution has increased significantly, negatively impacting biodiversity and ecosystem health. Heavy metals such as Hg, Pb, Cd come from industry, agriculture and mining and accumulate in marine organisms through bioaccumulation and biomagnification, causing toxicity in fauna and risks for consumers. In the Ebro Delta the marine ecosystem plays an important role, filtering and accumulating nutrients and contaminants from the water. Preserving these ecosystems guarantees their ecological and economic sustainability. Mollusks purified at different times were analyzed. The results showed variability in the concentration of metals such as Mg and Fe present at significant levels, while others such as Hg were not detected. There is a positive correlation between As and Ca and a negative correlation between As and Cd. After an adequate purification process, the mollusks present concentrations of metals within the limits established by European regulations and do not represent a significant risk to human health.

KEYWORDS: Mollusks, Mussels, Oysters, Heavy metals, Purification.



Resumen gráfico.

INTRODUCCIÓN

La salud de los ecosistemas marinos es esencial para mantener el equilibrio de nuestro planeta, ya que los océanos desempeñan un papel fundamental en la regulación del clima y la provisión de recursos naturales^[1]. Sin embargo, en las últimas décadas, hemos sido testigos de un aumento preocupante en la contaminación de los océanos debido a la presencia de dos tipos de contaminantes que están teniendo un impacto significativo en la biodiversidad marina y en la salud de los ecosistemas: los metales y los microplásticos^[1,2].

La contaminación de los océanos por metales pesados como Hg, Pb, Cd y Cu es un problema ambiental significativo. Estos metales entran al ecosistema marino a través de diversas fuentes antropogénicas, incluyendo la industria, la agricultura y la actividad minera. Las descargas industriales son una de las fuentes principales de metales pesados en los océanos. Las fábricas de baterías, pintura y electrónica son algunas de las principales contribuyentes. Los efluentes industriales contienen altas concentraciones de Hg, Pb, Cd y Cu, los cuales se liberan al agua sin un tratamiento adecuado en muchos casos^[3].

La agricultura contribuye a la contaminación por metales pesados a través del uso de pesticidas y fertilizantes que contienen trazas de estos metales^[4]. La escorrentía agrícola puede transportar estos metales a cuerpos de agua que eventualmente desembocan en los océanos^[3,4]. La minería es otra fuente importante de metales pesados^[5]. Las actividades mineras liberan grandes cantidades de metales pesados al medio ambiente a través del drenaje ácido de minas y la disposición de relaves mineros que pueden llegar a los cuerpos de agua y, finalmente, a los océanos^[4,5].

Una vez introducidos en el ecosistema marino, estos metales pueden ser absorbidos por organismos marinos y acumularse en sus tejidos. La bioacumulación se refiere a la acumulación de sustancias tóxicas en un organismo a lo largo del tiempo, mientras que la biomagnificación se refiere al aumento de la concentración de sustancias tóxicas a medida que se asciende en la cadena alimentaria^[6].

La exposición a metales pesados puede ser altamente tóxica para los organismos marinos. Por ejemplo, el Hg puede afectar el sistema nervioso de los peces, mientras que el Pb puede interferir

con la síntesis de hemoglobina^[7]. El Cd puede causar daños renales y óseos en la vida marina, y el Cu puede interferir con la respiración y la fotosíntesis en organismos acuáticos. Los seres humanos que consumen mariscos y pescados contaminados con metales pesados pueden correr el riesgo de sufrir efectos adversos para la salud^[7,8]. El Hg es conocido por su neurotoxicidad y puede causar daño cerebral y disfunción cognitiva, especialmente en fetos y niños pequeños^[7,8,9]. El Pb es tóxico para el sistema nervioso y puede causar problemas de desarrollo en niños^[8,9]. El Cd está asociado con enfermedades renales y óseas, y el Cu, en altas concentraciones, puede causar problemas gastrointestinales y hepáticos^[8,9].

El Delta del Ebro es un ecosistema altamente diverso en Europa^[10,11]. Este se encuentra en la provincia de Tarragona, en la comunidad autónoma de Cataluña. Al ser una región costera y de humedales, alberga una variedad de moluscos, que desempeñan un papel importante tanto en su entorno acuático como en las zonas húmedas y terrestres, indispensables para la economía de la zona. Contribuir en su preservación garantizará su sostenibilidad y mantendrá su valor tanto ecológico como económico^[10,11,12]. Entre los moluscos podemos encontrar 82 especies (75 gasterópodos y 7 bivalvos), tales como el mejillón (*Mytilus galloprovincialis*), coquinas (*Donax trunculus*) y la ostra del Pacífico (*Crassostrea gigas*)^[12]. Estos moluscos son organismos que se alimentan filtrando partículas de agua y microorganismos, como el fitoplancton, a través de sus branquias para obtener nutrientes^[8,9].

En el proceso de filtración, pueden acumular partículas, microorganismos e incluso partículas de alimentos y minerales, incluyendo elementos esenciales como minerales y oligoelementos^[9].

En general, los bivalvos no eliminan selectivamente los elementos esenciales durante el proceso de filtración^[13], por lo tanto, muchos de los minerales y elementos esenciales presentes en el agua, como Ca, Mg, P, K, Fe, Zn, Se, Cu entre otros, pueden ser absorbidos y acumulados en los tejidos de los moluscos^[9]. De hecho, a menudo se consideran una buena fuente de minerales esenciales para la dieta humana debido a su capacidad para acumular estos nutrientes^[14].

Por otro lado, debido a esa capacidad de filtración, estos moluscos pueden acumular contaminantes, como metales pesados, toxinas y microplásticos de su entorno^[15,16]. Los tipos y cantidades de contaminantes presentes pueden variar según la ubicación geográfica y las condiciones ambientales^[13,16]. La acumulación de metales se debe a la limitada capacidad de estos organismos para metabolizar y depurar los contaminantes absorbidos, en comparación con muchas otras especies^[14]. Entre los metales que podemos encontrar en estos animales filtradores se encuentra el

Hg, MeHg (a partir de la metilación del Hg en medio acuático), Pb, Cd, As, Cr, entre otros, los cuales en altas concentraciones pueden generar problemas en la salud como convulsiones, vómitos, dolor muscular y diversos otros síntomas afectando a diversos sistemas^[17]. Debido al potencial problema que ocasionan en nuestra salud, se ha estudiado a nivel mundial la presencia de metales pesados en moluscos.

En el mar chino de Bohai, se analizaron diferentes moluscos, de los cuales destaca *Mytilus edulis*, que presentó una bioacumulación de diferentes metales pesados sobre todo en el tejido de esta especie, de los cuales destacan As y Se (0,14 µg/g - 52,05 µg/g), Cu (0,98 µg/g - 146,85 µg/g), Zn (5,09 µg/g - 550,12 µg/g), Cr (0,07 µg/g - 3,24 µg/g) y Pb (0,02 µg/g - 1,33 µg/g)^[18]. Un estudio en Vietnam analizó la presencia de metales en ostras y almejas. Las concentraciones más elevadas correspondían a As, Cd, Pb, Hg y fueron determinados como un gran riesgo para la salud^[19].

En la India, la distribución de metales pesados en moluscos procedía de influencias antropogénicas, actividades portuarias y la bioacumulación de metales como el Cd, Cr, Cu, Pb y Zn, siendo el Cd el más prevalente con una concentración media de entre $2,81 \pm 1,07$ y $1,6 \pm 0,62$ mg/kg de peso húmedo^[20].

En una investigación realizada en el Mar Negro (Rumanía), encontraron metales pesados en todo el cuerpo de *Mytilus galloprovincialis*, también en su masa visceral y en tejidos restantes, sin embargo habían concentraciones más altas en las branquias y la masa visceral de los mejillones que en los tejidos restantes. Los resultados obtenidos fueron las siguientes concentraciones en peso seco: Cd (1.7 ± 0.17 µg/g); Cu (8.3 ± 0.38 µg/g); Zn (17 ± 14 µg/g); Hg (29 ± 2 µg/g); Fe (95 ± 9 µg/g); Mn (20.1 ± 3.2 µg/g)^[21].

Cataluña es una comunidad autónoma importante en cuanto a producción de mejillones en España, representando el 77,3% de la producción estatal total, por lo que también se ha estudiado las concentraciones de metales presentes en los moluscos procedentes del Delta del Ebro, lugar donde están ubicadas la mayoría de empresas del sector^[13]. En un estudio realizado en 2012 donde se investigaba las concentraciones de metales pesados presentes en ostras procedentes del Delta del Ebro, se detectaron concentraciones en peso seco de Hg (0.12-0.27 µg/g); Pb (0.26-0.78 µg/g); Cd (0.5-1.32 µg/g); As (0.001-0.002 µg/g); Cu (38.83-98.73 µg/g) y Zn (561.76-1126.84 µg/g)^[10].

Según la legislación de la Unión Europea (nº 1881/2006 (European Commission 2006), el límite máximo tolerable (LMT) para metales pesados en masa húmeda comestible de moluscos para ser aptos para el consumo es 1,5 mg/kg de Pb, 1 mg/kg de Cd y 0,5 mg/kg de Hg en peso fresco^[15].

Debido a su capacidad de filtración, los moluscos deben someterse a una depuración previa para ser posteriormente aptos para su consumo, ya que pueden contener microorganismos patógenos y otros contaminantes. Este proceso consiste en la inmersión de los moluscos en una corriente de agua de mar limpia en el que se mantienen unas condiciones de salinidad, temperatura y oxígeno disuelto específicas^[13]. En el reglamento se especifica un periodo de depuración de 18-24 horas en Italia, y se utilizan periodos de tiempo más cortos en países donde no se especifica un período mínimo, como es el caso de España^[22].

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Hipótesis: Los moluscos (mejillón, coquina y ostra) del Delta del Ebro presentan concentraciones de metales pesados que no presentan un riesgo significativo para la salud humana.

Objetivo general: Investigar si el proceso de depuración de moluscos cambia la relación de metales tóxicos presentes en sus tejidos, y determinar si los moluscos depurados son seguros para el consumo humano desde el punto de vista de la presencia de metales pesados.

Objetivo específico: Realizar un análisis detallado para determinar las concentraciones de diversos elementos y metales pesados, incluyendo As, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mg, Ni, Pb, Sb, Se y Zn, en moluscos sometidos a diferentes procesos de depuración, con el fin de evaluar las variaciones en la presencia de estos contaminantes en función del estado de depuración de los moluscos.

Examinar la ingesta de metales pesados como Pb, Cd, Zn y Hg a través del consumo de moluscos, y comparar las cantidades ingeridas con los límites máximos tolerables establecidos por las autoridades sanitarias.

METODOLOGÍA

Analizamos un total de 27 muestras de diferentes bivalvos (*Mytilus galloprovincialis*, *Donax trunculus* y *Crassostrea gigas*) procedentes del Delta del Ebro.

Cada una de estas muestras se analizó sin depurar, con una depuración habitual (24h, 2h y 72h en mejillones, coquinas y ostras) y con una depuración extendida (48h, 5h y 96h en mejillones, coquinas y ostras).

Para la determinación de metales y elementos traza se hizo un pre-tratamiento de los teflones, con una solución de ácido nítrico al 10% para evitar contaminaciones procedentes del material.

A continuación se realizó la digestión de las muestras a teflón cerrado. Se homogeneizaron con un homogeneizador de cuchillas y se tomaron 0.50 ± 0.01 gramos de cada muestra, pesados con una balanza de precisión. La muestra se introdujo en un teflón codificado, donde se añadió 5 mL de ácido nítrico al 65%. Estos teflones se introdujeron en una estufa de manera que se realizase el proceso de pre-digestión durante 8 horas a Tª ambiente y el de digestión 8 horas a 80 °C. Una vez finalizada la digestión, se procedió a hacer las filtraciones, donde se trasvasó el contenido del teflón a un matraz filtrando por gravedad y se enrasó con agua MilliQ a 25 mL. De cada tubo se extrajeron dos muestras. Estas muestras se conservaron a una temperatura de $-20 \text{ °C} \pm 6 \text{ °C}$ y se llevaron a analizar a los servicios científicos y técnicos de la Universidad de Barcelona.

Las concentraciones de As, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mg, Ni, Pb, Sb, Se y Zn se determinaron mediante espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS, Perkin Elmer Elan 6000), utilizando rodio (Rh) como componente interno estándar^[23].

Los límites de detección fueron los siguientes: $0,10 \mu\text{g g}^{-1}$ para As, Cr, Ni, Hb y Sb; $1,03 \mu\text{g g}^{-1}$ para Zn; $0,26 \mu\text{g g}^{-1}$ para Cu; $0,51 \mu\text{g g}^{-1}$ para Se y $0,05 \mu\text{g g}^{-1}$ para Pb, Cd y Co.

Para poder comparar los resultados obtenidos se utilizó el patrón *DOLT 5 (FISH LIVE)* y *1570AC (ESPINACAS)* certificados por el Instituto Nacional de Estándares y Tecnología.

Estadística

El análisis estadístico se realizó utilizando el software IBM SPSS Statistics® versión 28.0 (IBM Corp. lanzado en 2020, Armonk, NY, EE. UU.). Se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para evaluar la distribución de los valores. A su vez, para evaluar cualquier diferencia estadística entre grupos se utilizaron la prueba t de Student o la prueba ANOVA para datos, siguiendo una distribución paramétrica, o las pruebas de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos. Se consideró una diferencia significativa cuando la probabilidad era inferior a 0,05 ($p < 0,05$). Los niveles no detectados (ND) se consideraron como la mitad del límite de detección (LOD) ($ND = 1/2 LOD$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Concentraciones de Elementos Esenciales y No Esenciales en moluscos procedentes del Delta de l'Ebre

Tabla 1. Muestra las concentraciones de elementos esenciales y no esenciales en los moluscos aquí analizados.

El análisis de las concentraciones de metales (en $\mu\text{g g}^{-1}$) en moluscos procedentes del Delta del Ebro (M: mejillón, O: ostra, T: coquinas), en diferentes etapas de depuración (0h, 24h, 48h, 72h, 96h, 2h, 5h), revela patrones interesantes sobre la bioacumulación y la influencia del proceso de depuración en la composición de metales en estos organismos marinos.

Se puede observar que en general, las muestras muestran una variabilidad en las concentraciones de metales a lo largo del tiempo de depuración. El Mg es uno de los metales más abundantes en todas las muestras, con concentraciones que varían entre $440 \mu\text{g g}^{-1}$ y $892 \mu\text{g g}^{-1}$. El Fe también está presente en niveles significativos, con concentraciones que oscilan entre $28.4 \mu\text{g g}^{-1}$ y $66.8 \mu\text{g g}^{-1}$. Algunos metales, como el Hg o el Sb, no fueron detectados (ND) en ninguna de las muestras. Se observan diferencias significativas en las concentraciones de varios metales entre diferentes momentos de tiempo de depuración, indicadas por diferentes superíndices en la tabla.

Los resultados de las correlaciones observadas entre los diferentes elementos muestran patrones interesantes en las concentraciones de metales y metaloides en las muestras analizadas. Se ha

encontrado una correlación positiva entre As y calcio Ca (Figura 1), lo que indica que a medida que aumenta la concentración de As, también lo hace la de Ca. Esto sugiere que ambos elementos podrían estar siendo acumulados de manera conjunta por los moluscos, posiblemente debido a mecanismos de absorción similares o a la presencia de estos elementos en partículas similares en el ambiente. Por otro lado, hay una correlación negativa entre As y Cd (Figura 2), lo que significa que cuando las concentraciones de As aumentan, las de Cd disminuyen. Este patrón podría indicar un mecanismo competitivo de absorción o una capacidad limitada para manejar múltiples metales tóxicos al mismo tiempo, favoreciendo la acumulación de uno sobre el otro. Además, existe una correlación positiva entre As y Se (Figura 3), indicando que a medida que aumenta la concentración de As, también lo hace la de Se.

Se observa una correlación negativa entre Ca y Cd (Figura 4), sugiriendo un antagonismo entre estos elementos, donde un aumento en la absorción de Ca podría inhibir la absorción de Cd. Asimismo, hay una correlación negativa entre Cu y Co (Figura 5). Finalmente, existe una correlación positiva entre Cu y Zn (Figura 6), indicando que a medida que aumenta la concentración de Cu, también lo hace la de Zn.

Tabla 1

Concentraciones de metales ($\mu\text{g g}^{-1}$) en moluscos procedentes del Delta de l'Ebre.

Código de la muestra	As	Ca	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Hg	Mg	Ni	Pb	Sb	Se	Zn
M0h	2,33 ± 0,12	552 ± 92,2	0,07 ± 0,02	0,11 ± 0,02	0,33 ± 0,13 ^a	0,86 ± 0,19	66,8 ± 27,8 ^a	ND	892 ± 32,2	0,40 ± 0,10	0,13 ± 0,03	ND	0,48 ± 0,08	12,7 ± 3,81
M24h	2,42 ± 0,15	473 ± 48,9	0,06 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,22 ± 0,04 ^b	0,83 ± 0,07	28,4 ± 13,3 ^b	ND	880 ± 24,4	0,42 ± 0,22	0,11 ± 0,00	ND	0,53 ± 0,03	16,9 ± 1,44
M48h	2,35 ± 0,02	440 ± 57,2	0,07 ± 0,01	0,09 ± 0,00	0,44 ± 0,09 ^a	0,77 ± 0,22	28,7 ± 5,39 ^b	ND	837 ± 51,4	0,44 ± 0,01	0,1 ± 0,04	ND	0,48 ± 0,06	7,95 ± 7,22
O0h	2,19 ± 0,34	339 ± 16,7 ^a	0,08 ± 0,01	0,04 ± 0,00 ^a	0,04 ± 0,01 ^a	6,33 ± 0,35	35,8 ± 4,80 ^a	ND	867 ± 28,0 ^a	ND	ND	ND	0,28 ± 0,06	82,1 ± 12,1
O72h	1,87 ± 0,18	466 ± 26,1 ^b	0,11 ± 0,02	0,03 ± 0,00 ^b	0,03 ± 0,01 ^a	8,16 ± 1,61	15,8 ± 2,78 ^b	ND	728 ± 15,1 ^b	0,05 ± 0,04	ND	ND	0,20 ± 0,04	98,4 ± 42,8
O96h	2,01 ± 0,32	529 ± 91,1 ^c	0,09 ± 0,02	0,03 ± 0,00 ^b	0,02 ± 0,00 ^b	8,2 ± 0,81	14,4 ± 0,70 ^b	ND	714 ± 41,7 ^b	0,16 ± 0,07	0,05 ± 0,01	ND	0,29 ± 0,08	101 ± 24,9
T0h	3,64 ± 0,40 ^a	898 ± 24,4	0,01 ± 0,00 ^a	0,08 ± 0,00 ^a	0,32 ± 0,05 ^a	2,39 ± 0,10	57,7 ± 9,68	ND	648 ± 15,7 ^a	0,12 ± 0,02 ^a	0,18 ± 0,13	ND	0,69 ± 0,09	10,2 ± 0,26 ^a
T2h	3,62 ± 0,14 ^a	775 ± 87,7	ND ^b	0,09 ± 0,00 ^a	0,54 ± 0,09 ^b	2,56 ± 0,36	56,1 ± 11,9	ND	701 ± 16,7 ^b	0,4 ± 0,45 ^b	0,05 ± 0,01	ND	0,79 ± 0,06	10,6 ± 1,31 ^a
T5h	4,27 ± 0,14 ^b	898 ± 98,4	0,01 ± 0,00 ^a	0,1 ± 0,00 ^b	0,31 ± 0,04 ^a	2,1 ± 0,15	69,2 ± 14,9	ND	731 ± 3,75 ^b	0,36 ± 0,06 ^b	0,13 ± 0,03	ND	0,81 ± 0,07	13,8 ± 1,80 ^b

ND: No detectado. Diferentes superíndices indican diferencias significativas con respecto al tiempo de depuración.

Los resultados están expresados en media ± desviación estándar.

Comparación entre grupos

Mejillones

Los resultados detallados del análisis de metales en muestras de mejillones (M0h, M24h, M48h) revelan variaciones significativas en las concentraciones de Cr y Fe, durante diferentes períodos de depuración.

Las concentraciones de Cr muestran una variación significativa entre los períodos de depuración. La concentración más alta se observa en el grupo M48h, con un valor promedio de $0,44 \pm 0,09 \mu\text{g/g}$, mientras que el grupo M24h muestra la concentración más baja, con $0,22 \pm 0,04 \mu\text{g/g}$.

La forma química del cromo (Cr(III) y Cr(VI)) puede cambiar con el tiempo debido a procesos químicos en el agua. Si inicialmente había más Cr(VI) y luego se redujo a Cr(III), esto podría explicar una disminución en M24h, seguido de un cambio que podría aumentar la concentración de Cr disponible en M48h^[9,24]. Un aumento en la concentración de cromo podría deberse también a la resuspensión de sedimentos ricos en Cr, reintroduciendo el metal en la columna de agua y permitiendo su reabsorción por los mejillones^[24].

Los resultados de la concentración de Fe muestran una marcada reducción después de 24 horas de depuración (M24h), con una concentración promedio de $28,4 \pm 13,3 \mu\text{g/g}$, en comparación con el grupo sin depuración (M0h) que tiene una concentración significativamente más alta de $66,8 \pm 27,8 \mu\text{g/g}$. La disminución continua en el grupo M48h ($28,7 \pm 5,39 \mu\text{g/g}$) sugiere una tendencia a la estabilización en los niveles de hierro después de cierto tiempo de depuración. Esta disminución de Fe puede deberse a la expulsión de arena y partículas sedimentarias presentes en los mejillones al inicio del proceso de depuración^[25].

En términos generales, las variaciones en las concentraciones de estos metales, en los mejillones durante diferentes períodos de depuración pueden atribuirse a la interacción compleja entre la biología de estos, la calidad del agua y la exposición a fuentes ambientales de metales^[6,24,25].

En aguas donde la sedimentación es rápida, la concentración inicial de Fe en los mejillones puede disminuir rápidamente durante la depuración ya que la reexposición es limitada.

Sin embargo, si los sedimentos se vuelven a suspender por corrientes o actividad biológica, pueden liberar Fe de nuevo en la columna de agua afectando la tasa de depuración de estos, igual que pasa con el Cr^[6,20,25].

En ambientes donde la resuspensión de sedimentos es baja, la depuración es más rápida y eficaz, resultando en menores concentraciones de Fe en menos tiempo. En estas condiciones, el mejillón elimina el Fe principalmente durante la primera depuración, sin que haya una diferencia notable con una segunda depuración. Por lo tanto, no es necesario llevar a cabo una segunda depuración antes de consumirlos.

El resto de metales no tienen diferencias estadísticas significativas en los diferentes tiempos de depuración.

Ostras

En el análisis de metales en muestras de ostras (00h, 072h, 096h), se observa que las concentraciones de As en estos bivalvos no presentan cambios significativos entre los períodos de depuración, manteniéndose relativamente estables en torno a 2 µg/g.

En cuanto al Ca, se observa un aumento progresivo en su concentración a medida que avanza el tiempo de depuración. Las ostras inicialmente presentan una concentración de aproximadamente 339 µg/g (00h), que aumenta a 466 µg/g (072h) y luego a 529 µg/g (096h). Durante el proceso de depuración, las ostras pueden estar en un entorno más controlado y menos estresante, lo que permite que dediquen más recursos a la formación y fortalecimiento de sus conchas, que están compuestas principalmente de carbonato de calcio^[26]. Este proceso de biomineralización puede aumentar la absorción de Ca del entorno acuático. También pueden ajustar su metabolismo en respuesta a cambios en las condiciones del agua. En un ambiente de depuración, es posible que las ostras absorban y retengan más Ca para equilibrar sus procesos internos y mantener la homeostasis^[10,26].

Para el Cd, se registran concentraciones bajas en todas las muestras de ostras, sin diferencias significativas entre los períodos de depuración, oscilando alrededor de 0,1 µg/g.

Se observa una disminución significativa en las concentraciones de Cu en las ostras a medida que avanza el tiempo de depuración. Las concentraciones son más altas inicialmente en 00h ($35,8 \pm 4,80$ µg/g) y disminuyen en las muestras depuradas durante 72 horas (072h: $15,8 \pm 2,78$ µg/g) y 96 horas (096h: $14,4 \pm 0,70$ µg/g).

El Cr muestra una ligera disminución en las concentraciones a medida que avanza el tiempo de depuración, siendo más alto en las ostras sin depuración (00h) y más bajo en las muestras depuradas (096h).

Las concentraciones de Fe muestran una tendencia a la disminución con el tiempo de depuración, siendo más altas en las ostras sin depuración (00h) y disminuyendo a valores más bajos en las muestras depuradas (072h y 096h). La disminución de algunos elementos como el Fe puede deberse a la expulsión de arena y partículas sedimentarias durante el proceso de depuración, lo que contribuye a la reducción de estos metales en los tejidos^[25,27].

Por último, se observa un aumento progresivo en las concentraciones de Mg en las ostras a medida que avanza el tiempo de depuración. Las concentraciones son más bajas inicialmente en 00h ($339 \pm 16,7 \mu\text{g/g}$) y aumentan en las muestras depuradas durante 72 horas (072h: $466 \pm 26,1 \mu\text{g/g}$) y 96 horas (096h: $529 \pm 91,1 \mu\text{g/g}$).

Las ostras suelen acumular metales pesados en el agua de mar, dónde se suelen acumular altos niveles en sus tejidos, por lo que tener un consumo de ostras que estén contaminadas dará como resultado una toxicidad en los seres humanos^[24,28]. La bioacumulación de metales como el Cd por ejemplo dependerá de la alteración estacional, la salinidad y diferencias regionales. El efecto estacional y la acumulación del Cd no se produce hasta que el agua supera los 15°C . En cuanto a la salinidad y las concentraciones de Cd en los tejidos, cuanto mayor es el nivel, menor es la concentración del metal. En cuanto a la acumulación de Ca y Mg serán más altas en las glándulas digestivas^[27,28,29].

Coquinas

En el grupo de las coquinas se observa un ligero aumento en las concentraciones de As a medida que avanza el tiempo de depuración, con valores más altos en T5h ($4,27 \pm 0,14 \mu\text{g/g}$) en comparación con T1 ($3,64 \pm 0,40 \mu\text{g/g}$) y T2h ($3,62 \pm 0,14 \mu\text{g/g}$). Durante el proceso de depuración, las coquinas podrían liberar As que previamente estaba almacenado en sus tejidos, lo que resultaría en una redistribución interna del metal. Esta liberación interna podría ser una respuesta al estrés del proceso de depuración o a cambios en el metabolismo de las coquinas^[30].

Las diferencias en las concentraciones de Cr son también estadísticamente significativas entre las muestras, con valores en T1 ($0,32 \pm 0,05 \mu\text{g/g}$), T2h ($0,54 \pm 0,09 \mu\text{g/g}$) y T5h ($0,31 \pm 0,04 \mu\text{g/g}$).

Las concentraciones de Mg en las coquinas muestran variaciones notables durante los diferentes períodos de estudio. En la muestra T5h, se observa un aumento significativo en las concentraciones de Mg ($69,2 \pm 14,9 \mu\text{g/g}$) en comparación con T1 ($57,7 \pm 9,68 \mu\text{g/g}$) y T2h ($56,1 \pm 11,9 \mu\text{g/g}$).

El Ni muestra un aumento progresivo a lo largo del tiempo de exposición. En particular, se observa un aumento significativo en las concentraciones de Ni en la muestra T5h ($0,36 \pm 0,06 \mu\text{g/g}$) en comparación con T1 ($0,12 \pm 0,02 \mu\text{g/g}$) y T2h ($0,18 \pm 0,13 \mu\text{g/g}$). Estos resultados podrían deberse a la liberación de Ni de las partículas sedimentarias atrapadas dentro de las coquinas al inicio del proceso. A medida que estas se limpian y digieren las partículas atrapadas, el Ni contenido en estas partículas se libera y se absorbe, resultando en un incremento en las concentraciones internas del metal^[27,30].

El Zn también aumenta gradualmente a lo largo del tiempo de exposición. Se observa un aumento significativo en las concentraciones de Zn en la muestra T5h ($13,8 \pm 1,80 \mu\text{g/g}$) en comparación con T1 ($10,2 \pm 0,26 \mu\text{g/g}$) y T2h ($10,6 \pm 1,31 \mu\text{g/g}$).

Los otros metales no muestran diferencias estadísticamente significativas en las coquinas.

La relación entre la expulsión de arena y el tipo de molusco está estrechamente ligada a su hábitat natural y su comportamiento alimentario. Los moluscos, como los mejillones y las ostras, son filtradores, lo que significa que obtienen su alimento filtrando partículas de agua. En el caso de los mejillones, que generalmente viven en áreas intermareales en sustratos rocosos, la presencia de arena en sus tejidos puede estar relacionada con la captura accidental de partículas sedimentarias durante el proceso de alimentación. Estas partículas de arena pueden ser expulsadas durante el proceso de depuración, lo que contribuye a la reducción de la concentración de ciertos elementos, como el Fe, en sus tejidos^[25].

Por otro lado, las ostras y coquinas, que a menudo se encuentran en fondos arenosos o lodosos en aguas costeras, pueden tener una mayor cantidad de arena en sus tejidos debido a su hábitat y su comportamiento de alimentación, que implica la absorción de partículas del lecho marino^[25,31].

Los índices de consumo español disponibles de mejillones, ostras y almejas proporcionados por EFSA (2024) tuvieron en cuenta los consumidores de moluscos y fueron de $2,89 \text{ g/día}$ (percentil 95 de $8,95 \text{ g/día}$) para los mejillones, $1,14 \text{ g/día}$ (percentil 95 de $2,10 \text{ g/día}$) para las coquinas y $1,69 \text{ g/día}$ (con un percentil 95 no reportado) para la ostra.

Las concentraciones de Cr y Fe en los mejillones muestran variaciones significativas durante el proceso de depuración. Las concentraciones más altas de Cr se observan en el grupo M48h ($0,44 \pm 0,09 \mu\text{g/g}$) y las de Fe en el grupo sin depuración (M0h: $66,8 \pm 27,8 \mu\text{g/g}$). Para calcular la ingesta promedio de un elemento en un molusco, se multiplica la concentración del elemento por el consumo diario promedio del molusco. En el caso de la ingesta en el percentil 95, se multiplica la concentración del elemento por el consumo diario en el percentil 95 del molusco, por lo tanto, la ingesta promedio es de $1,27 \mu\text{g/día}$ y la Ingesta en el percentil 95 de $3,94 \mu\text{g/día}$, en el caso del Cr, y de $193,1 \mu\text{g/día}$ y $598,7 \mu\text{g/día}$ de ingesta promedio y de percentil 95 en el caso del Fe.

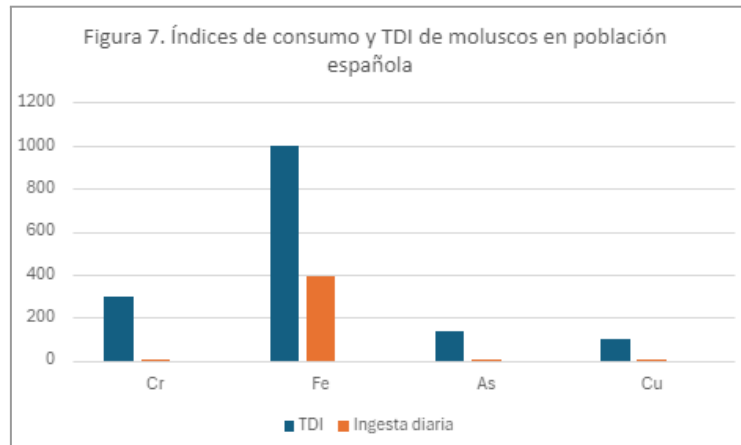
Las concentraciones de As y Cu en las ostras no presentan cambios significativos para el As (aproximadamente $2 \mu\text{g/g}$) y muestran una disminución en Cu desde $35,8 \pm 4,80 \mu\text{g/g}$ en O0h a $14,4 \pm 0,70 \mu\text{g/g}$ en O96h. Al calcular la ingesta promedio obtenemos el valor de $3,38 \mu\text{g/día}$ de As y $24,34 \mu\text{g/día}$ de Cu.

La Ingesta Diaria Tolerable (TDI) es un valor de referencia utilizado por organismos de salud pública y seguridad alimentaria para estimar la cantidad máxima de una sustancia química, presente en los alimentos y el agua potable, que puede ser consumida diariamente durante toda la vida sin presentar un riesgo significativo para la salud ^[32]. Superar la TDI puede conllevar diversos riesgos para la salud, que varían según el elemento y la cantidad de exposición, como problemas gastrointestinales, efectos en el sistema inmune, hemocromatosis, cáncer, disfunción renal, entre otros^[7,8,9,32].

Con estos resultados, se puede observar que la TDI para el Cr (total) es de $0,3 \text{ mg/kg}$ de peso corporal (equivalente a $300 \mu\text{g/día}$ para una persona de 70 kg). Las ingestas calculadas ($1,27 \mu\text{g/día}$ y $3,94 \mu\text{g/día}$) están muy por debajo de este límite. No se establece una TDI específica para el Fe en alimentos debido a su esencialidad, pero las ingestas calculadas ($193,1 \mu\text{g/día}$ y $598,7 \mu\text{g/día}$) están dentro de los niveles seguros para la mayoría de las personas. La TDI provisional para el As es de $2 \mu\text{g/kg}$ de peso corporal ($140 \mu\text{g/día}$ para una persona de 70 kg). La ingesta calculada ($3,38 \mu\text{g/día}$) está muy por debajo de este límite.

Por último la TDI para el Cu es de $0,15 \text{ mg/kg}$ de peso corporal (equivalente a $10,5 \text{ mg/día}$ para una persona de 70 kg). Las ingestas calculadas ($24,34 \mu\text{g/día}$ y $60,50 \mu\text{g/día}$) están muy por debajo de este límite.

Las concentraciones de metales pesados en mejillones, ostras y almejas consumidos en España no representan un riesgo tóxico significativo según los índices de consumo disponibles y los valores de referencia toxicológicos. Sin embargo, es importante continuar monitoreando estos niveles para garantizar la seguridad alimentaria, especialmente en áreas con posibles fuentes de contaminación.



CONCLUSIONES

El estudio realizado sobre los moluscos (mejillón, coquina y ostra) del Delta del Ebro revela que, aunque estos organismos contienen diferentes metales, las concentraciones de metales tóxicos como el Hg o Sb no fueron detectados en ninguna muestra. Además, las concentraciones de otros metales como el Pb y Cd se encuentran por debajo de límites máximos tolerables establecidos por las autoridades sanitarias. Esto indica que los moluscos que se analizaron no presentan un riesgo significativo para la salud humana.

El proceso de depuración de los moluscos influye en la bioacumulación de metales. Durante las diferentes etapas de depuración (0h,24h,48h,72h,96,2h,5h), se observó una variabilidad en las concentraciones de ciertos metales, con una tendencia a la disminución de los niveles de metales tóxicos, este proceso es efectivo en mejorar la seguridad de los moluscos para el consumo humano.

Las correlaciones observadas entre diferentes elementos como la positiva entre As y Ca y la negativa entre As y Cd, sugieren mecanismos de absorción conjunta o competitiva en los moluscos. Estas relaciones proporcionan una comprensión más profunda de cómo los metales interactúan en estos organismos.

En conclusión, los resultados indican que los moluscos depurados del Delta del Ebro son seguros para el consumo humano desde el punto de vista de la presencia de metales pesados. La depuración es un proceso esencial para garantizar la seguridad alimentaria reduciendo la concentración de metales tóxicos y asegurando que los niveles de metales en los moluscos se mantengan dentro de los límites seguros establecidos por las autoridades sanitarias. Por lo tanto, se valida la hipótesis de que los moluscos del Delta del Ebro no presentan un riesgo significativo para la salud humana.

BIBLIOGRAFÍA

- [1]: Cavanagh RD, Broszeit S, Pilling GM, Grant SM, Murphy EJ, Austen MC. Valuing biodiversity and ecosystem services: a useful way to manage and conserve marine resources? *Proc Biol Sci.* 2016 Dec 14;283(1844):20161635.
- [2]: Issac MN, Kandasubramanian B. Effect of microplastics in water and aquatic systems. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2021 Apr;28(16):19544-19562.
- [3]: Al-Najjar, A., Alsuhaibani, H.. Industrial sources of heavy metals contamination to the marine environment. *Environmental Monitoring and Assessment.* 2020. 192(6), 371.
- [4]: Gaw, S. Palmer, A. S. Agricultural practices and their impact on heavy metal contamination in coastal environments. *Agriculture, Ecosystems & Environment.* 2020. 301, 106970.
- [5]: Tarras-Wahlberg, N. H., Flachier, A., Lane, S. N. Environmental impacts and metal exposure of aquatic ecosystems in rivers contaminated by small scale gold mining: The Puyango River basin, southern Ecuador. *The Science of the Total Environment.* 2001. 278(1-3), 239-261.
- [6]: Watanabe, K. H., Fukuda, Y. Bioaccumulation and biomagnification of heavy metals in marine ecosystems: The significance of trophic transfer. *Marine Pollution Bulletin.* 2015. 101(1), 320-326.
- [7]: Rainbow, P. S. Trace metal bioaccumulation: models, metabolic availability and toxicity. *Environment International.* 2007. 33(4), 576-582.
- [8]: Clarkson, T. W, Magos, L. The toxicology of mercury and its chemical compounds. *Critical Reviews in Toxicology.*2006. 36(8), 609-662.
- [9]: Jarup, L. Hazards of heavy metal contamination. *British Medical Bulletin.* 2003. 68(1), 167-182.
- [10]: Ochoa V, Barata C, Riva MC. Heavy metal content in oysters (*Crassostrea gigas*) cultured in the Ebro Delta in Catalonia, Spain. *Environ Monit Assess.* 2013 Aug;185(8):6783-92.

- [11]: Faria M, Huertas D, Soto DX, Grimalt JO, et al. Contaminant accumulation and multi-biomarker responses in field collected zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) and crayfish (*Procambarus clarkii*), to evaluate toxicological effects of industrial hazardous dumps in the Ebro river (NE Spain). *Chemosphere*. 2010 Jan;78(3):232-40.
- [12]: Quiñonero S, Lopez J. Moluscos continentales del delta del Ebro (Cataluña, España). 2014; 5. 121-133.
- [13]: Cuadrado RA, Catalana De Seguret A, Fernández Mateos C, Soriano RI, Salord I, Tomàs Acosta C, et al. La seguridad alimentaria de los moluscos bivalvos vivos en Catalunya. *Gencat.cat*.
- [14]: Crustáceos y moluscos. Ministerio de agricultura, pesca y alimentación. 2023 Gob.es.
- [15]: Arasa M, Esteva V, Martínez F. Guía de prácticas correctas de higiene para los centros de depuración de moluscos. *Generalitat de catalunya*; 2022.
- [16]: Crustáceos y Moluscos. Ministerio De Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente de España; 2017.
- [17]: Rai PK, Lee SS, Zhang M, Tsang YF, Kim KH. Heavy metals in food crops: Health risks, fate, mechanisms, and management. *Environ Int*. 2019 Apr;125:365-385.
- [18]: Shi YWLL. Study on the contamination of heavy metals and their correlations in mollusks collected from coastal sites along the Chinese Bohai Sea. *Environment International*; 2005.
- [19]: Thom Thi Dang 1, Thu Anh Vo 2, Manh Tuan Duong. (2005). Heavy metals in cultured oysters (*Saccostrea glomerata*) and clams (*Meretrix lyrata*) from the northern coastal area of Vietnam. *Environ Int* .
- [20]: Anagha B, Santhosh Athira P, Anisha P. (2022). Biomonitorización de la acumulación de metales pesados en moluscos y equinodermos recogidos en la costa sur de la India. *Boletín de contaminación marina*.

[21]: Roméo M, Frasila C, Gnassia-Barelli M. (2005). Biomonitoring of trace metals in the Black Sea (Romania) using mussels *Mytilus galloprovincialis*. Water Research.

[22]: Ronald Lee AL. Depuración de bivalvos: aspectos fundamentales y prácticos. Roma, Italia: Food & Agriculture Organization of the United Nations (FAO); 2010.

[23] González N, Marquès M, et al. Temporal trend of the dietary exposure to metals/metalloids: A case study in Tarragona County, Spain. Food Research International. 2021. 147, 110469.

[24]: Mazin A. Zorba, P.G. Jacob, et al. Clams as pollution bioindicators in Kuwait's marine environment: metal accumulation and depuration. Science of The Total Environment. 1992. 120 (3), 185-204.

[25]: Zepeda E, Garcia-Esquivel, et al. Clearance rates of sand-burrowed and laterally pressed unburrowed Pismo clam *Tivela stultorum* (Mawe 1823) in a laboratory open-flow system. Biol Open. 2024 Apr 15;13(4)

[26]: Qiu, J.-W., Xie, Z.-C., Wang, W.-X. Effects of calcium on the uptake and elimination of cadmium and zinc in Asiatic clams. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 2005. 48(2), 278–287.

[27]: K.W. Chan a, R.Y.H. Cheung b, S.F. Leung. Depuración de metales de tejidos blandos de ostras (*Crassostrea gigas*) trasplantados de un sitio contaminado a sitios limpios. Contaminación ambiental; 1999.

[28] Hédouin, L., Metian, M., et al. Alta contribución de la vía de absorción de partículas a la bioacumulación de metales en la almeja marina tropical *Gafrarium pectinatum*. Investigación Internacional sobre Ciencias Ambientales y Contaminación. 2015. 25 (12), 11206–11218.

[29]: Frazier JM. Bioacumulación de cadmio en organismos marinos. Perspectiva de salud ambiental; 1979.

[30]: Geethalakshmi SCKE. La temperatura, la salinidad y el tamaño corporal influyen en la depuración de metales pesados en moluscos bivalvos comestibles de importancia comercial de la India. Quimiosfera; 2022

[31]: Veiga P, Moreira J, Sampaio L, Troncoso JS, Rubal M. Effects of habitat homogenisation on assemblages associated with mussel clumps. PLoS One. 2022 Jun 1;17(6)

[32]: Herrman JL, Younes M. Background to the ADI/TDI/PTWI. Regul Toxicol Pharmacol. 1999 Oct;30(2 Pt 2):S109-13.

